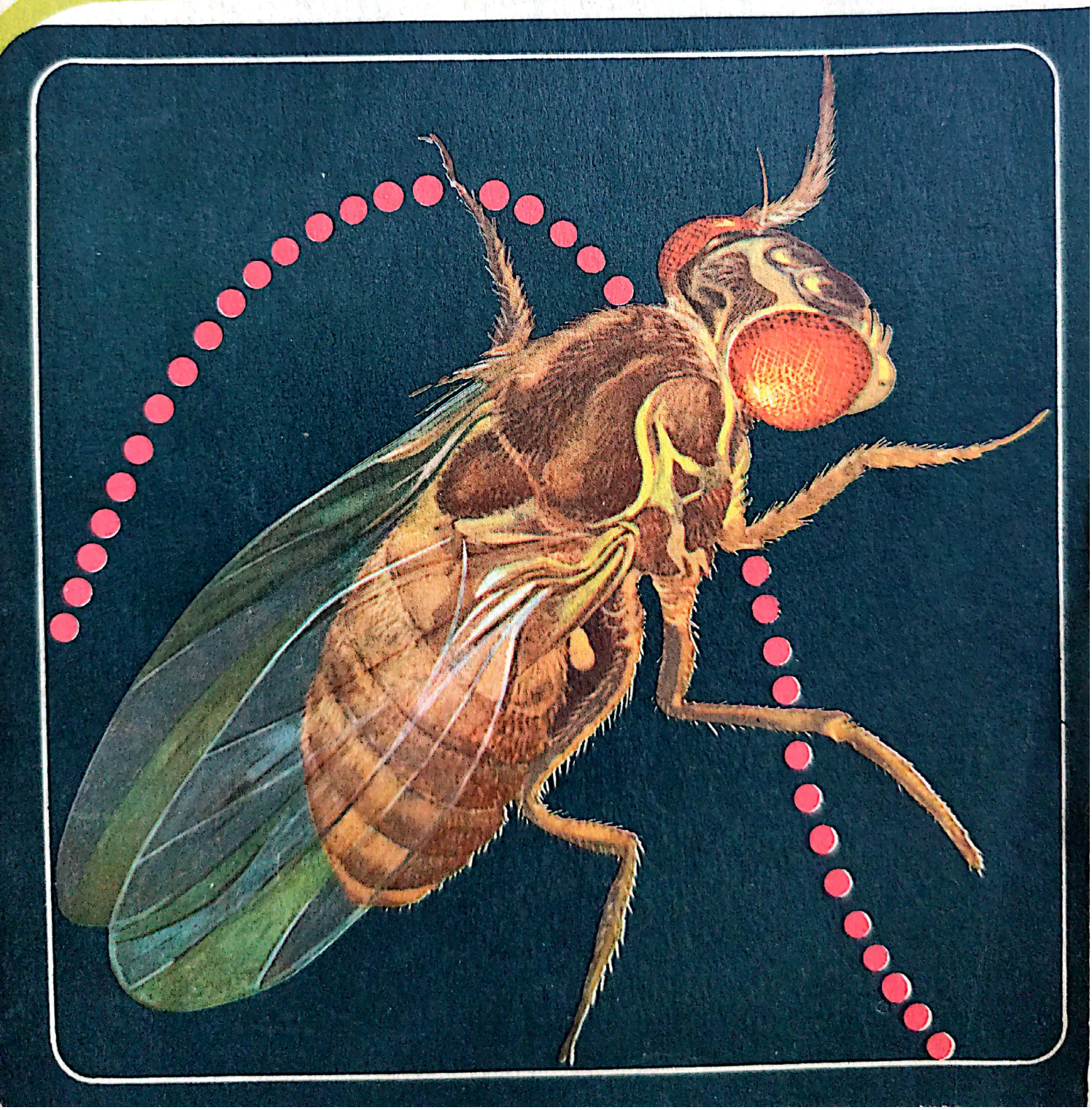
MIRCEA TUFESCU LUCIAN GAVRILĂ VIOREL SORAN NICULINA CÎMPEANU

Lucrări practice de BIOLOGIE GENERALĂ



Scanned with OKEN Scanner

Lector dr. MIRCEA TUFESCU
Dr. VIOREL SORAN

Dr. LUCIAN GAVRILĂ
Prof. NICULINA CÎMPEANU

Lucrări practice de BIOLOGIE GENERALĂ

Editura didactică și pedagogică – București, 1977

Scanned with OKEN Scanner

CUVÎNT ÎNAINTE

Sînt întotdeauna bucuros să contribui la răspîndirea cunoștințelor de biologie, deoarece am convingerea că toate puterile creatoare ale omului și rolul pe care îl desfășoară pe planetă prin dezvoltarea sa socială, se datoresc aptitudinilor sale de ființă vie. De aceea, cunoașterea biologicului din noi și natura înconjurătoare este indispensabilă formării intelectuale a omului modern, pentru a răspunde atît cerințelor de înțelegere a devenirii sale în lume, cît și de a rezolva problemele materiale ale existenței comunităților umane.

Prezentul îndrumător: „Lucrări practice de biologie generală", datorat rodnicei colaborări a patru autori: Mircea Tufescu, Lucian Gavrilă, Viorel Soran și Niculina Cîmpeanu, întrunind o competență profesională complementară în învățămîntul mediu și universitar al biologiei și totodată în cercetarea științifică, constituie fără îndoială un valoros aport la nevoia de instruire în complexitatea actuală a științelor biologice.

Așa cum a fost întocmit de autori, îndrumătorul depășește cu mult cadrul unui îndrumător de lucrări practice pentru tineretul școlar și reprezintă un atrăgător mijloc de informare a unor cercuri mai largi de cititori despre aspecte esențiale ale biologiei contemporane. Într-adevăr indicațiile de lucru sînt întotdeauna precedate de excelente precizări rezumative ale tratării teoretice a problemelor abordate, care devin pe deplin accesibile prin caracterul demonstrativ concret al exercițiilor practice planificate.

Autorii apreciază vădit avantajele pedagogice ale cunoașterii materiale active, de aceea și-au mobilizat toată ingeniozitatea pentru a reuși să cuprindă în aceste lucrări practice și procese biologice de lungă durată, care se desfășoară în succesiunea generațiilor și în sistemele supraindividuale din vasta ambianță a naturii. În acest scop, au avut inițiativa de a recurge la modelări sau simulări fizice și matematice, care le-au permis să ia în studiu transmiterea caracterelor ereditare și alte fenomene de genetică, condițiile de reglaj ale sistemelor ecologice, populația și biocenoza; în sfîrșit, să analizeze chiar aspecte de bază ale evoluționismului, ca diferențierea variabilității genetice și nongenetice, efectele derivei genetice, ale selecției naturale și sexuale în microevoluție etc.

Pe de altă parte, punerea în evidență a compoziției chimice a organismelor, a funcțiilor metabolice principale ca fotosinteza și respirația, a ciclului cromozomal celular, a regenerării și modalităților reproducerii la animale și plante, la care se adaugă constatarea și interpretarea evoluționistă a unui mănunchi de adaptări privitoare la influența factorilor fizici asupra plantelor, plasticitatea morfofiziologică, simbioza, parazitismul și homocromia în cele două regnuri — toată această tematică multilaterală aduce în contact direct cu realitățile diferitelor nivele de organizare ale viețuitoarelor, pe cei care vor folosi îndrumătorul.

Scanned with OKEN Scanner

Parcurgînd capitolele volumului, sîntem îndemnaţi să preţuim pe autori deopotrivă pentru grija lor de o documentare bibliografică de mare actualitate, pentru strădania de renovare a programei didactice prin introducerea unor procedee originale de prelucrare şi exemplificare a datelor abstracte, pentru claritatea expunerii metodelor de lucru, care garantează succesul operaţiilor experimentale.

Fiind elaborat după o concepţie integrativă, acest îndrumător va putea promova în şcolile noastre, caracterul pluri-şi interdisciplinar al biologiei, iar cunoaşterea cauzalităţii fenomenelor fundamentale ale vieţii va stimula orientarea tinerilor biologi în munca de producţie şi învăţămînt pentru înflorirea României socialiste.

Valoarea instructivă a textului, sporită de calitatea ilustraţiei şi a prezentării grafice, constituie premiza optimistă ca folosirea lucrării în practica şcolară să valideze pe deplin efortul entuziast şi hotărît meritoriu al autorilor.

Acad. prof. RADU CODREANU

Scanned with OKEN Scanner

„Se va urmări perfecționarea metodelor de transmitere și însușire a cunoștințelor; va fi diminuată ponderea activităților expozitive și va fi extinsă utilizarea metodelor moderne, active, care dezvoltă gîndirea, capacitatea de investigare a elevilor, presupun participarea lor la dobîndirea cunoștințelor, munca lor independentă deprinderea de a învăța sistematic și de a aplica în practică cele însușite" (Hotărîrea plenarei C.C. al P.C.R. din 18—19 iunie 1973 cu privire la dezvoltarea și perfecționarea învățămîntului în Republica Socialistă România).

INTRODUCERE

Lucrările practice de biologie generală trebuie să releve caracteristicile structurale și funcționale pentru sistemele biologice studiate de cele trei domenii fundamentale ale biologiei moderne :

1) Biologia moleculară și celulară.
2) Biologia individului pluricelular.
3) Biologia sistemelor supraindividuale.

Realizarea unor lucrări de demonstrare a caracteristicilor majore ale lumii vii impune dificultăți sporite pentru primul și ultimul domeniu ; doar problemele privind biologia individului pluricelular se relevă în experiențe mai simple ca tehnică și timp impus.

Pentru lucrările practice de biologie moleculară și, parțial, biologie celulară, dificultățile de efectuare sînt datorate inaccesibilității tehnicilor uzuale de lucru pentru elevi, profesori sau studenți, ca electronomicroscopia sau sinteze și reacții biochimice măsurabile (bazate pe substanțe pure evidențiate cantitativ pe diferite căi).

În prezenta lucrare, dr. L. Gavrilă a apelat la cele două soluții posibile, în acest caz pentru genetica moleculară : a) prezentarea teoretică a experiențelor cruciale, care să ofere punctul de sprijin în generalizări ; b) modelarea unor structuri și procese, care să permită înțelegerea concretă a problemelor abordate.

La aceste două strategii se adaugă o a treia, extrem de importantă pentru învățare. Este vorba de acele exerciții prin care se continuă activitatea cititorului dincolo de cadrul cărții, cu posibilitatea de a i se releva aspecte inedite.

Pentru compoziția chimică a materiei vii, dr. V. Soran a selecționat o serie de experiențe fundamentale, care se pot realiza cu mijloace relativ modeste.

Biologia celulară și a individului pluricelular au fost tratate sumar, întrucît recent s-au publicat lucrări practice de botanică, zoologie și anatomie-fiziologie animală. Consultîndu-le, elevii, profesorii și studenții vor putea selecționa lucrările de laborator cele mai potrivite pentru abordarea structu-

Scanned with OKEN Scanner

rilor și fiziologiei celulei și individului pluricelular. Lucrarea de față se oprește numai asupra acelor lucrări și demonstrații în legătură cu unele procese fundamentale, ca, de exemplu, producția autotrofă de substanțe organice, degradarea lor prin respirație.

Pentru domeniul biologiei supraindividuale sînt implicate următoarele procese majore : funcționalitatea genetică și ecologică a sistemelor supraindividuale, mecanismul evoluției biologice și evoluția filogenetică a grupelor de organisme. Ultimul aspect este relevat implicit de lucrările practice de botanică și zoologie publicate anterior. Celelalte trei aspecte formează obiectul prezentei lucrări. Procesele implicate impun cel puțin două dificultăți tehnice majore : durata mare a acestora în funcție de timpul disponibil al cercetătorului (depășind în general longevitatea umană medie) și spațiul larg implicat pentru experiment. În cazul proceselor ecologice elementare, impedimentele au fost depășite mai ales prin utilizarea, ca obiect de studiu, a speciilor cu dimensiune și longevitate individuală mică, ca drojdia de bere sau drosofila. O a doua strategie, folosită mai ales în cazul evoluționismului, s-a bazat pe modelarea fizică și matematică a proceselor.

Modelarea fizică este realizată cu ajutorul unor simulatoare ușor de construit cu mijloace modeste, implicînd bile de culori diferite, cutii de amestec, fișe de înregistrare a datelor. Un pas înainte în utilizarea tehnicii din acest punct de vedere constă în realizarea de simulatoare electrice cu becuri de lanternă pe principiul funcționării lor binare. Evident că rezolvarea unor probleme concrete este mult ușurată de folosirea calculatorului electronic. Deși tehnica electronică de calcul s-a impus astăzi în toate domeniile, existînd posibilități din acest punct de vedere chiar la nivel școlar, în unele licee, totuși nu am apelat la ea. Motivația este simplă. Dorim ca orice tînăr studios să aibă posibilitatea, folosind o tehnică modestă, să abordeze domeniul atît de interesant al mecanismelor evoluției biologice.

Nu trebuie să uităm rolul important pe care îl joacă evoluționismul în concretizarea și ilustrarea principiilor materialismului dialectic și în formarea unei solide și realiste culturi generale impusă de cadrul specific al revoluției științifico-tehnice contemporane. Pe de altă parte, simularea fizică cu bile a procesului evolutiv are avantajul unei „vizualizări" accentuate a etapelor și mecanismelor reliefate. Însăși individul biologic este palpabil în acest sistem reprezentat printr-o bilă. În calculatorul electronic, procesul este extrem de abstractizat : calculatorul nu apare în acest caz ca un instrument de învățare, ci drept unul de exploatare în favoarea rapidității rezultatelor. Este posibil ca cineva care nu cunoaște logica procesului biologic să utilizeze un program deja alcătuit pentru un calculator, în scopul soluționării unor probleme. O astfel de persoană va fi însă ruptă de realitatea biologică, existînd pericolul ca, utilizînd o tehnică superioară, să obțină rezultate inexacte. Considerăm deci că, în faza inițială a procesului de învățare, se impune necesitatea disecției analitice a mecanismului evoluției și recompunerii sale etapă cu etapă. Astfel se răspunde dezideratului fundamental pentru învățămîntul modern de stimulare a creativității.

Menționăm că modelările fizice propuse sînt originale. Pornind de la ideea mai veche a utilizării bilelor în modelare și introducînd codul „o bilă egal un genotip" (ceea ce aduce o simplificare numerică), dr. M. Tufescu a

stabilit tipurile fundamentale, caracteristicile lor definitorii și algoritmul specific. Algoritmul este interpretat ca semnificație biologică pentru fiecare etapă.

Modelările matematice au implicat introducerea noțiunilor de statistică și probabilistică. De fapt este vorba de o concretizare pentru domeniul propus, deoarece, în ultimii ani de liceu, elevii dispun de un bagaj matematic suficient pentru înțelegerea problemelor. În lucrarea de față se oferă numeroase modele de aplicabilitate. Evident că odată folosit, aparatul matematic are infinite posibilități de dezvoltare.

Lucrarea se încheie cu un capitol privind adaptările ca argumentație în favoarea evoluționismului. Profesoara Niculina Cîmpeanu a ales aspectele cele mai semnificative și le-a abordat cu o tehnică modernă, în cea mai mare măsură cantitativă.

Cartea cuprinde deci lucrări practice, care se pot grupa în trei categorii esențiale : a) lucrări cu material natural ; b) modelări fizice (atît statice cît și simulări) ; c) modelări matematice însoțite de exerciții. Lucrările se pot realiza la nivele diferite de aprofundare a problemelor. În acest fel, cartea se adresează atît elevilor cît și studenților și profesorilor care pot executa lucrările practice indicate fie în scop demonstrativ, fie pentru aprofundarea cunoștințelor teoretice prin aplicațiile practice implicate.

Ținem să reliefăm faptul că tema lucrărilor practice de biologie generală nu a fost tratată pînă acum în literatura de specialitate decît parțial și fugitiv. Considerăm deci că lucrarea respectivă are meritul de a oferi un prim material informativ în acest domeniu, cu avantajele și dezavantajele pe care le implică o astfel de încercare.

Scanned with OKEN Scanner

1. CARACTERISTICILE FUNDAMENTALE ALE MATERIEI VII

1.1. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A SISTEMELOR VII

Sistemele vii sînt alcătuite, fără excepție, din cîteva, dar cu regularitate din aceleași, elemente ale sistemului periodic. Elementele care intră în compoziția sistemelor vii se găsesc asociate în diferite categorii de compuși anorganici și organici. Compoziția chimică a sistemelor vii (elementară și moleculară) este un argument științific, și unul din cele mai puternice, în favoarea unității materiale a vieții terestre.

1.1.1. Apa din organisme

Toate ființele sînt constituite dintr-o proporție însemnată de apă. Cantitatea de apă prezentă în orice sistem viu și în stare de viață activă variază între 70 și 99%, în funcție de organul, specia și vîrsta organismului supus analizei. Excepție fac semințele, oasele vertebratelor, cochiliile moluștelor sau chitina insectelor.

Materiale necesare : organism viu (plantă în stare verde, broască, pește), eprubete, bec de gaz sau lampă de spirt, balanță analitică, fiolă de cîntărire, baghetă de sticlă, etuvă termostată, foarfece, placă de sticlă, pensă, nisip de cuarț, exicator, cleşti de laborator de diferite forme și dimensiuni, clorură de calciu anhidră sau acid sulfuric concentrat.

Mod de lucru. În funcție de dotarea laboratorului școlar, experiențele se pot efectua în două variante : una mai simplă calitativă și alta mai complexă, în scopul determinării cantitative a apei dintr-un țesut oarecare.

■ **Evidențierea apei în țesuturi.** Pe o placă de sticlă (spălată bine cu apă și detergent, apoi clătită de mai multe ori cu apă distilată) se mărunțește, cu ajutorul foarfecelor, un țesut în fragmente mici, de dimensiuni variabile. Cu ajutorul unei pense curate, fragmentele de țesut viu (frunze, morcovi, cartofi, ceapă, mușchi animal sau alt material) se așază într-o eprubetă curată în cantitate redusă, care să nu treacă de circa 1/4 din volumul eprubetei. Se încălzește cu grijă eprubeta, în așa fel încît țesutul viu să nu se carbonizeze. Înspre gura eprubetei, unde sticla este încă rece, se va observa condensarea pe pereți a vaporilor de apă degajați de țesuturile vii supuse încălzirii.

■ **Determinarea cantitativă a apei din țesuturi.** Rezultatele măsurătorilor de regulă se exprimă în procente față de greutatea substanței uscate a țesuturilor. În cazul determinărilor foarte precise cerute de cercetarea

Scanned with OKEN Scanner

ştiinţifică este necesar să se cunoască, în prealabil, umiditatea materialelor cu care se lucrează (fiola de cîntărire, nisipul fin de cuarţ, bagheta de sticlă).

Umiditatea fiolei şi a nisipului se determină astfel: într-o fiolă de cîntărire curată se pun 5 g de nisip de cuarţ curat (spălat în prealabil cu o soluţie de permanganat de potasiu concentrat, acid clorhidric concentrat şi clătit de mai multe ori cu apă distilată), o baghetă de sticlă, mai mică decît fiola de cîntărire, în poziţie oblică şi capacul aşezat în poziţie înclinată. Timp de 1—2 ore fiola se aşază în etuva termostată la temperatura de 100—105°C. Apoi, în scopul răcirii, fiola se aşază într-un exicator de sticlă, în care se află clorură de calciu anhidră sau acid sulfuric concentrat, substanţe care absorb puternic vaporii de apă. După o jumătate de oră, fiola se cîntăreşte succesiv de trei ori la o balanţă analitică. Se introduce iarăşi în exicator, iar după o oră se repetă cîntărirea. Dacă greutatea fiolei a rămas constantă, se poate executa determinarea cantităţii de apă dintr-un ţesut.

Pe o placă de sticlă curată se mărunţesc circa 10 g de ţesut proaspăt vegetal sau animal, care se introduce cu pensa în fiolă. Se cîntăreşte la balanţa analitică fiola bine acoperită cu capacul. În scopul inactivării enzimelor fiola se deschide, aşezînd oblic capacul, şi se introduce, timp de 30 min, într-o etuvă termostat, încălzită la 110°C. După efectuarea operaţiei de mai sus fiola se scoate din termostat şi se aşază într-o altă etuvă, la temperatura de 50—60°C, pentru ca materialul să se usuce treptat. Din cînd în cînd, fiola se scoate afară şi cu ajutorul baghetei amestecăm fragmentele de ţesut cu nisipul încins. Uscarea continuă pînă cînd materialul organic devine sfărîmicios.

În final, fiola se introduce iarăşi într-o etuvă încălzită la 100—105°C timp de 3—4 ore. Apoi se scoate din etuvă, se răceşte o jumătate de oră în exicator şi se cîntăreşte. Operaţia se repetă după o nouă încălzire în etuvă, timp de 2 ore, la temperatura de 100—105°C. Dacă diferenţa dintre cele două cîntăriri este mai mică de 0,3 mg, greutatea substanţei uscate se consideră constantă.

Trebuie să ţinem seama de faptul că temperatura termostatului în timpul uscării (nu şi în acela al inactivării enzimelor) nu trebuie să depăşească 105°C. În caz contrar, se poate produce o pierdere de substanţă organică, prin carbonizarea parţială a ţesuturilor supuse uscării.

Conţinutul de apă se calculează în procente după formula:

$$\frac{(a - b) \times 100}{a},$$

unde: a = greutatea ţesutului proaspăt (se află scăzînd greutatea fiolei cu nisip din greutatea fiolei încărcate cu ţesutul proaspăt); b = greutatea substanţei uscate (se află, ca în cazul precedent, scăzînd greutatea fiolei cu nisip din greutatea fiolei încărcate cu ţesutul uscat); diferenţa $a - b$ = cantitatea de apă existentă în ţesutul analizat.

Cantitatea de substanţă uscată (în procente) se calculează după formula:

$$\frac{b \times 100}{a}.$$

O b s e r v a ţ i i. Executarea experienţei de mai sus în clasă, cu elevii, se poate simplifica. În prealabil, adică într-o oră anterioară efectuării măsurătorilor, se cîntăreşte ţesutul viu, apoi se usucă în aer sau în etuvă,

Scanned with OKEN Scanner

după condițiile existente în școală, dar înainte de cîntărirea substanței uscate, încălzirea timp de 2 ore la 100—105°C în etuvă este obligatorie.

În timpul efectuării experiențelor este de dorit ca profesorul să împartă elevii în cel puțin două grupe. O grupă să determine cantitatea de apă dintr-un țesut vegetal, alta dintr-unul animal. Se mai pot face astfel de determinări separat pe organe sau pe diferite specii de viețuitoare. Datele obținute pot fi supuse unor prelucrări statistice simple, cum ar fi calcularea mediei artmetice, a erorii sau abaterii standard și a coeficientului de variație (a se vedea capitolul 2.3.1.).

1.1.2. Compoziția chimică elementară a organismelor

Viețuitoarele sînt alcătuite dintr-un număr constant și redus de elemente chimice: 16 din cele 106 cunoscute astăzi în sistemul periodic. Aceste 16 elemente chimice: C, H, N, O, P, S, Na, K, Mg, Ca, Cl, Fe, Mn, Co, Cu și Zn sînt numite, în general, „elementele vieții". Într-un organism însă se pot afla și alte elemente. Elementele chimice prezente într-un organism pot fi împărțite în două categorii: elemente fundamentale (C, H, N, O, P și S, care intră în structura substanței organice și care dețin circa 99% din greutatea substanței uscate) și elemente secundare (care dețin circa 1% din greutatea substanței uscate). Compoziția chimică a organismelor vii se poate determina prin analiza cenușii, obținute prin incinerarea substanței uscate.

Materiale necesare: material vegetal sau animal uscat, bec de gaz, creuzet de porțelan, clești de laborator de diferite forme și dimensiuni, cuptor de calcinare, balanță analitică, eprubete, vase conice Erlenmeyer, pîlnii, pahare Berzelius, exicator, mojare cu pistil, sticlă de cobalt, hîrtie de filtru, microscop, lame microscopice, acid azotic 5%, azotat de argint 3%, acid clorhidric 5%, acid sulfuric 10%, sulfocianură de potasiu 10%, molibdat de amoniu 1%, acid acetic 1—2%.

Mod de lucru. Fiindcă există mai multe moduri în care se poate determina compoziția chimică a țesuturilor, profesorul își va orienta demonstrațiile în funcție de posibilitățiile laboratorului școlar. Elementele din alcătuirea unui țesut viu se pot determina fie prin calcinarea rapidă (din cenușă), fie prin mineralizarea înceată cu ajutorul unui amestec de reactivi (acid azotic și acid sulfuric).

■ **Determinarea cantității de cenușă.** Un creuzet de porțelan curat se încălzește pînă la roșu, timp de o oră, la flacăra unui bec de gaz. Creuzetul se răcește apoi la exicator și se cîntărește la balanța analitică. Operația de calcinare se repetă de mai multe ori, dacă este cazul pînă cînd greutatea creuzetului rămîne aproximativ constantă.

În creuzetul astfel pregătit se cîntăresc 1—2 g de țesut deshidratat (adus la starea de substanță uscată conform experiențelor anterioare).

Creuzetul cu materialul uscat se încălzește încet la flacăra unui bec de gaz. În timpul calcinării, creuzetul trebuie să fie acoperit cu capacul său de porțelan. În timpul încălzirii lente a materialului, care se face prin așezarea

Scanned with OKEN Scanner

creuzetului la o distanță de 2—3 cm de flacără, pe capac se condensează o serie de produși de distilare sub forma unor reziduuri de culoare neagră (evidentă prezența carbonului în substanța organică).

Prin deschiderea capacului se controlează dacă distilarea compușilor de carbon s-a terminat. Apoi se reglează flacăra becului pentru temperaturi ridicate. Încălzind creuzetul la roșu-închis, se obține cenușa, de culoare albicioasă. În funcție de abundența unor elemente, culoarea cenușie poate să fie diferită. O cenușă verzuie indică prezența manganului, una de culoare roșie-brună, a fierului. În laboratoarele școlare unde există cuptor de calcinare incinerarea completă se face în cuptor.

Cantitatea de cenușă obținută se determină prin cîntărirea repetată și calcinarea repetată a creuzetului care se păstrează un timp în exicator pînă cînd înregistrăm o greutate constantă.

Procentul de cenușă se calculează după formula :

$$\frac{b \times 100}{a}$$

în care a = greutatea țesutului uscat înainte de calcinare ; b = greutatea cenușii, care se află, făcînd diferența dintre greutatea creuzetului după calcinare și înainte de calcinare, fără țesutul uscat.

Datele obținute pot fi supuse acelorași prelucrări statistice ca în lucrarea precedentă.

Cenușa constituie materia primă pentru analiza elementară a țesuturilor, organelor și organismelor cu excepția carbonului, hidrogenului, oxigenului și azotului care se volatilizează în timpul incinerării. Dacă arderea nu se face cu precauție, se pot pierde parțial sau total sulful și fosforul. În cenușă prin urmare vom găsi constant compuși ai potasiului, sodiului, magneziului, calciului, clorului, fierului, manganului, cobaltului, cuprului și zincului. În cazul unei calcinări corecte se pot indentifica de asemenea sulful și zincul.

■ **Evidențierea cîtorva elemente în cenușă.** Înainte de a evidenția prezența cîtorva elemente dintre cele amintite mai sus, este necesar să facem un extract apos din cenușă. În acest scop, adăugăm 100 ml apă distilată peste 3 g cenușă, așteptăm să se decanteze și filtrăm extractul dacă este cazul, de mai multe ori, pînă la obținerea unei soluții clare.

Extractul de cenușă apos ne permite indentificarea următoarelor elemente chimice :

— *potasiul* (se lucrează, în special, cu cenușă de spanac bogată în K) : înmuiem vîrful unui creion bine ascuțit în extractul de cenușă și îl trecem prin flacăra becului de gaz. Privind printr-o sticlă de cobalt, care reține razele galbene produse de sodiu, vom observa flacăra violet-deschisă datorată potasiului.

— *sodiul* : dacă repetăm experiența de mai înainte fără a privi prin sticla de cobalt, vom observa flacăra galbenă produsă de sodiu.

— *clorul* (este preferabil să se lucreze cu cenușă de tutun sau țelină, bogate în cloruri) : într-o eprubetă punem 1 ml de extract de cenușă. Adăugăm soluției 3—4 picături de acid azotic 5% și cîteva picături de azotat de argint 3%. În eprubetă se formează precipitatul alb brînzos de clorură de argint. Reacția se desfășoară conform ecuației :

$$AgNO_3 + KCl \longrightarrow AgCl + KNO_3.$$

Scanned with OKEN Scanner

— *alte elemente chimice*, mai puţin solubile în apă, se pot pune în evidenţă prin solubilizarea în acizi : în două vase conice Erlenmeyer se cîntăresc cîte 3 g cenuşă. Într-un vas conic se adaugă 100 ml acid clorhidric 5%, în celălalt 100 ml acid azotic 5%. Ambele vase se încălzesc uşor la flacără cîte 10 min, apoi extractele se filtrează. Calciul, magneziul, fierul şi sulful sub formă de sulfat le identificăm în extractul făcut în acid clorhidric ; manganul şi fosforul le identificăm în extractul cu acid azotic.

— *calciul* (este preferabil să se lucreze cu cenuşă de stejar sau de oase, bogată în calciu) ; cenuşa de oase se prepară astfel : fie că se pune în cuptorul de calcinare o bucată de os curat, fie că ardem osul direct la flacăra becului de gaz timp de o oră. Se obţine un material poros de culoare alburie, care poate fi sfărîmat într-un mojar. Pulberea obţinută este cenuşa sau făina de oase. Aceasta posedă aproximativ următoarea compoziţie chimică : fosfat de calciu 83—86%, fosfat de magneziu 1—2%, carbonat de calciu 9—11% şi florură de calciu 3—5%. Pe o lamă de microscop se pune o picătură din extractul făcut în acid clorhidric. Se adaugă acestuia o picătură de acid sulfuric 10% sau 15%. Pe lamă se formează cristalele aciculare de ghips (sulfat de calciu), care pot fi observate uşor la microscop. Adăugarea unei cantităţi mici de alcool grăbeşte reacţia de precipitare. Reacţia se desfăşoară conform ecuaţiei :

$$CaCl_2 + H_2SO_4 \longrightarrow CaSO_4 + 2\ HCl.$$

Calciul poate fi evidenţiat din extractul făcut în acid clorhidric şi pe cale pirognostică. Vîrful de creion înmuiat în extract, datorită prezenţei clorurei de calciu, va da o flacără roşie-cărămizie.

— *fierul* : într-o eprubetă punem 1—2 ml extract făcut în acid clorhidric din cenuşă de spanac, plantă bogată în fier. Adăugăm o soluţie de sulfocianură de potasiu. Lichidul din eprubetă va căpăta o culoare roşie, a cărei nuanţă depinde de concentraţia în fier, datorită combinării clorurii ferice din extract cu sulfocianura de potasiu şi formării sulfocianurii de fier. Reacţia se desfăşoară conform ecuaţiei :

$$FeCl_3 + 3\ KSCN \rightarrow Fe(SCN)_3 + 3\ KCl.$$

— *fosforul* : pe o lamă de microscop se pune o picătură de extract de cenuşă aflat în acid azotic. Se adaugă apoi o picătură de molibdat de amoniu 1%, în amestec cu acid azotic concentrat. Amestecăm picăturile cu o baghetă subţire şi încălzim uşor lama (la circa 50°C). Privim apoi la microscop şi vom observa pe lamă prezenţa unor cristale galbene de diferite forme, datorate formării fosfomolibdatului de amoniu. Reacţia se desfăşoară conform ecuaţiei :

$$K_3PO_4 + 12\ MoO_4(NH_4)_2 + 24\ HNO_3 \rightarrow (MoO_3)_{12}PO_4(NH_4)_3 + 21\ NH_4NO_3 + 12\ H_2O + 3\ KNO_3.$$

Dacă ne folosim de cenuşa de oase mersul experienţei este următorul : într-un balon Erlenmeyer punem cîteva grame (5—10 g) cenuşă sau făină de oase. Peste acestea adăugăm 10—20 ml de acid acetic 1—2%. Soluţia obţinută se filtrează de cîteva ori pînă la obţinerea unui lichid clar. Într-o eprubetă punem 2 ml din această soluţie concentrată şi îi adăugăm 2—6 ml de soluţie concentrată de acetat de uranil. Încălzindu-se uşor la flacără, în eprubetă apare un precipitat lînos şi galben de fosfat de uranil.

Scanned with OKEN Scanner

O b s e r v a ţ i i. Este bine ca profesorul să execute înainte toate experienţele indicate, spre a se convinge de reuşita lor şi pentru a putea să intervină cu mici modificări cerute de condiţiile concrete ale laboratorului în care lucrează.

1.1.3. Substanţele organice

Cantitatea de substanţă uscată variază, prin urmare, în limite largi, constituind îndeosebi circa 20—40% din greutatea unui organism. Majoritatea substanţelor care intră în constituţia unei fiinţe vii sînt cele organice, mineralele, nedepăşind 1% din greutatea substanţei uscate. Materialele organice dintr-un sistem viu, indiferent de natura lui, de regulă pot fi împărţite după proporţia în care sînt prezente şi după importanţa lor în structura şi funcţia organismelor în următoarele grupe: acizi nucleici şi proteine circa 15—20%, grăsimi (lipide structurale şi de rezervă) 3—20%, zaharuri şi polizaharide 1—15%, alte molecule organice mici pînă la 1%.

Materiale necesare: materiale vegetale sau animale în conformitate cu cerinţele experienţelor, vase conice Erlenmeyer, hîrtie de turnesol, soluţie alcoolică de α— naftol 10%, hidrat de sodiu sau potasiu 20%, soluţie diluată de acid clorhidric, reactivul Barfoed (5 g acetat de cupru, 5 g acetat de sodiu, 0,5 ml acid acetic glacial, 100 ml apă distilată), soluţie alcoolică saturată de Sudan III, soluţii concentrate de clorură de sodiu, clorură de calciu, sulfat de magneziu, acetat de plumb şi acid clorhidric concentrat, hidrat de potasiu 0,2%, iodo-iodură de potasiu (2 g iodură de potasiu, 1 g de iod la 200 ml apă distilată), carbonat de sodiu 1%, acid acetic 10%, acetat de plumb 0,5%, sulfat de cupru 1%, azotat de argint 3%, baghetă de sticlă, spatulă de sticlă.

Mod de lucru. Se va indica pentru fiecare grupă de substanţe organice.

■ **Evidenţierea zaharurilor** (mono- şi dizaharidele). În ţesuturile vii zaharurile au preponderent rol energetic. Materialele cele mai potrivite pentru obţinerea zaharurilor sînt fructele, dar glucoza, de pildă, o putem separa şi din ţesuturile animale (sînge, muşchi, ficat).

Glucoza şi fructoza, cele mai comune monozaharide în lumea vegetală, pot fi extrase din diverse organe ale plantelor (fructe: ca mere, pere, struguri, prune; zarzavaturi: morcovi şi ceapă; seminţe de grîu şi orz în curs de germinaţie; ramuri ale unor arbori). Acestea se răzuiesc sau se macerează într-un fel oarecare. Din materialul vegetal astfel preparat se cîntăresc 20 g, peste care se adaugă 100 ml apă distilată. Extragerea se face prin fierbere într-un vas conic Erlenmayer de 250 ml, timp de cîteva minute (5—10 min). Apoi, după decantare, soluţia obţinută se filtrează.

Glucoza şi fructoza se pot evidenţia în filtratul astfel obţinut prin mai multe reacţii:

Reacţia de caramelizare. Într-un vas Erlenmayer punem pînă la 5 ml din extractul obţinut prin fierbere, la care adăugăm 1—2 ml hidrat de potasiu sau de sodiu 20%. Încălzim vasul conic la flacără. Hidratul produce o caramelizare a monozaharidelor; în consecinţă, soluţia se va colora în diferite nuanţe, începînd cu galben şi sfîrşind cu cafeniu închis. Coloraţia este în funcţie de concentraţia celor două monozaharide. Cantităţile mai mici de zahăr produc

o culoare deschisă, galbenă, cele mari, nuanțe de culoare închisă. Mirosul de caramel se accentuează dacă adăugăm fierturii cîteva picături de acid clorhidric.

Reacția lui Hans Molisch. Într-o eprubetă punem cîțiva mililitri din extractul vegetal, peste care adăugăm 2—3 ml de soluție alcoolică de α—naftol 10%. Cele două soluții se amestecă prin agitare. Apoi, cu o pipetă prelingem pe pereții eprubetei 1—2 ml acid sulfuric concentrat. Se va forma imediat un inel de culoare violetă, iar printr-o nouă agitare a eprubetei se va colora întreaga soluție. Dacă în locul α— naftolului se folosește timolul, obținem în eprubetă o soluție de culoare roșie-vișinie. Culoarea violetă sau roșie se datorează furfurolului care se formează prin reacția dintre zaharuri și acidul sulfuric. Furfurolul împreună cu α— naftolul, timolul sau alți fenoli dau naștere unor complecși coloranți.

Reacția Barfoed. Într-un vas conic Erlenmeyer punem cîțiva mililitri din extractul vegetal obținut prin fierbere, la care se adaugă un volum egal din reactivul Barfoed. Amestecul de extract și reactiv îl fierbem. Treptat se formează un precipitat roșu de oxid cupros (Cu O). Reacția reușește în mediu neutru sau slab acid (pH = 5 — 7).

■ **Identificarea aminoacizilor** este mai pretențioasă din punct de vedere tehnic, depășind posibilitățile unui mic laborator școlar. Ne mulțumim să arătăm că aminoacizii se obțin prin hidrolizarea unei proteine de origine vegetală sau animală, urmată de separarea lor cromatografică pe hîrtie și de indentificarea lor cu ajutorul ninhidrinei 0,2% ori a isatinei 0,2%.

■ **Evidențierea lipidelor.** Lipidele pot fi ușor puse în evidență în diverse materiale de origine vegetală sau animală. În corpul viețuitoarelor, după cum știm, ele au un rol energetic și structural.

Evidențierea simplă prin pătarea hîrtiei de scris. Semințele unor plante conțin o cantitate sporită de uleiuri vegetale (floarea-soarelui, dovleac, nuc, ricin), care pot fi ușor identificate cu ajutorul hîrtiei de scris. Dacă pe hîrtia de scris vom strivi cîteva din semințele speciilor menționate vor apărea imediat pe ea pete persistente translucide. Petele se datorează prezenței diverselor uleiuri vegetale.

Colorarea grăsimilor. Se toarnă într-o eprubetă 2 ml de ulei vegetal, peste care se adaugă alți 2 ml de soluție alcoolică saturată de Sudan III. Se amestecă cele două lichide prin agitare. Alcoolul colorat în roșu închis se va decolora, iar uleiul se va colora puternic în portocaliu, datorită dizolvării selective a Sudanului în lipidele vegetale. Notăm că Sudanul III este reactivul specific pentru grăsimi, indiferent de proveniența lor, de aceea în microscopia fotonică el se folosește curent în tehnicile de citochimie, în scopul evidențierii grăsimilor.

Saponificarea grăsimilor. Într-o eprubetă sau într-un vas conic Erlenmayer se pun cîteva grame (5—10 g) ulei vegetal sau grăsime animală. Reacția decurge mai repede prin folosirea uleiului vegetal. Peste grăsime se adaugă 3—8 ml hidrat de sodiu 20—30%. În funcție de concentrația hidratului folosim o cantitate mai mică sau mai mare din acest reactiv. Se fierb împreună timp de 10—30 min, amestecînd ingredientele încet cu ajutorul unei baghete. După răcire, săpunul obținut poate să aibă o consistență solidă sau lichidă vîscoasă, în funcție de proveniență. Din săpunul obținut se face o soluție concentrată în apă distilată. În cinci eprubete punem cîte 5 ml din soluția

Scanned with OKEN Scanner

de săpun pentru fiecare în parte. Apoi adăugăm separat în eprubete soluții concentrate din următoarele săruri : clorură de sodiu, clorură de calciu, sulfat de magneziu și acetat de plumb. Prin agitare, în fiecare eprubetă se formează un precipitat. Sarea de bucătărie produce salifierea săpunului, celelalte săruri înlocuiesc sodiul din săpunul de sodiu și formează săpunurile metalelor respective, care sînt insolubile în apă. Dacă se adaugă în ultima eprubetă acid clorhidric, se formează clorură de sodiu și se pun în libertate acizii grași din săpun, de asemenea, sub forma unui precipitat.

■ **Extragerea și evidențierea proteinelor.** Proteinele constituie partea cea mai însemnată din substanța uscată a țesuturilor, circa 75%. Dacă ne referim la greutatea țesutului în stare vie, proteinele, împreună cu acizii nucleici, sînt prezente în proporție de circa 15%. Ele ocupă deci un loc predominant, față de alte substanțe organice, în alcătuirea celulelor și țesuturilor.

Proteinele pot fi extrase atît din corpul vegetalelor, cît și din cel al animalelor.

Cea mai la îndemînă sursă pentru studierea proteinelor o constituie *albușul de ou*. În scopul efectuării diferitelor experiențe se pune un albuș de ou într-un vas conic Erlenmeyer de 250 ml, adăugîndu-i 150 ml apă distilată. Agităm timp de 10 min puternic materialele, pînă cînd apa dizolvă complet albușul de ou. Soluția obținută o filtrăm printr-o bucată de pînză umedă.

În locul albușului de ou putem apela la unele proteine vegetale. De exemplu, din tuberculii de cartof se poate extrage albumina, iar din făina de grîu, glutenul.

Un *tubercul* mare de cartof, curățit de coajă și bine spălat, se răzuiește pe o răzătoare de sticlă și se pune într-un vas conic Erlenmeyer de 250 ml. Peste materialul vegetal se adaugă 100 ml apă distilată ; agităm bine de mai multe ori în răstimpul de 30—40 min cît are loc extragerea. Apoi filtrăm soluția printr-o pîlnie curată, prevăzută cu hîrtie de filtru. Se obține o soluție de albumină vegetală din cartofi.

Făina de grîu, de asemenea, constituie o sursă potrivită pentru obținerea de proteine. În acest scop se procedează astfel : într-o capsulă de porțelan se cîntăresc aproximativ 20 g de făină de grîu, care se amestecă apoi cu 10 ml apă distilată. Se obține un aluat consistent care în mod obligatoriu se lasă în repaus cel puțin 15 min. Așezăm aluatul într-o pînză dublă de tifon și îl spălăm la un curent de apă sub robinet pînă cînd apa de spălare devine clară și nu mai colorează în albastru soluția de iod (reacția specifică pentru identificarea amidonului). În pînza de tifon rămîne o proteină elastică, insolubilă în apă, numită gluten.

Soluțiile de proteine obținute prin procedeele descrise mai sus constituie materia primă necesară pentru efectuarea cîtorva reacții specifice de evidențiere și descompunere a proteinelor.

Compoziția elementară a proteinelor. Într-o eprubetă curată punem puțină albumină animală sau vegetală, uscată bine prin procedeul determinării substanței uscate, adică prin uscarea albușului de ou sau a unei proteine vegetale precipitate din soluție, în etuvă la + 110°C (pentru precipitare vezi experiența următoare). Proteina uscată se încălzește treptat la flacără. Se observă succesiv următoarele procese. La început, proteina se brunifică, iar apoi se înnegrește, simultan cu depunerea picăturilor de apă pe pereții dinspre gura eprubetei. Apa ne indică prezența hidrogenului și oxigenului

Scanned with OKEN Scanner

în compoziția proteinelor. La gura eprubetei așezăm în această fază o hîrtie de filtru înmuiată în acetat de plumb și o hîrtie roșie de turnesol. Se continuă încălzirea. Azotul din componența proteinelor se degajă sub formă de amoniac și albăstrește hîrtia de turnesol, iar sulful degajat sub formă de dioxid de sulf se combină cu plumbul din acetatul de plumb și formează sulfura de plumb, de culoare neagră. Hîrtia de filtru umezită cu acetatul de plumb se înnegrește. La sfîrșitul încălzirii pe fundul eprubetei rămîne un reziduu negru, care reprezintă carbonul prezent în proteine.

Reacții de precipitare. Soluțiile de proteină de origine vegetală sau animală precipită reversibil sau ireversibil cu sărurile diferitelor metale.

O soluție saturată de sulfat de amoniu precipită rapid proteinele dintr-o soluție de albuș de ou sau din cea obținută din tuberculii de cartofi. Prin adăugarea de clorură de sodiu 2% sau hidrat de potasiu 5% precipitatele obținute se redizolvă.

Prin tratarea soluțiilor de proteină animală ori vegetală cu săruri ale metalelor grele (acetat de plumb 0,5%, sulfat de cupru 1%, clorură mercurică 0,5% sau azotat de argint 3%) se formează precipitate ireversibile.

Experiențele de precipitare se execută în eprubete.

Reacții de colorare. Reacția de colorare cea mai cunoscută pentru proteine, indiferent de proveniență, este a biuretului. Ea se datorează legăturii peptidice prezentă în orice substanță de natură proteică. Prin legătura peptidică aminoacizii unei molecule proteice se asociază în lungile lanțuri polipeptidice. Reacția constă în apariția unei colorații roz-violet, în urma tratării unei soluții alcaline de proteină cu sulfat de cupru.

Practic, la clasă procedăm în felul următor : o soluție de proteină (4—5 ml) se alcalinizează cu hidrat de sodiu sau hidrat de potasiu 20%, apoi se adaugă 2—5 picături de sulfat de cupru 1%. Se agită bine eprubeta ; se constată colorarea soluției în roz-violet.

Prin tratarea cu acid azotic soluțiile de proteină se colorează în galben (reacția xantoproteică). Colorarea se datorează cîtorva aminoacizi (fenilalanină, tirozină și triptofan), care conțin în molecula lor nuclee benzenice. Reacția se realizează astfel : într-o eprubetă se pun 2—5 ml soluție de proteină, la care se adaugă 2—3 ml acid azotic concentrat. Prin încălzire ușoară la flacără apare o culoare galbenă, care trece în portocaliu prin neutralizarea cu baze.

Notă. Nu am propus nici o reacție pentru extragerea și evidențierea acizilor nucleici, întrucît într-un laborator școlar lucrările necesare în vederea realizării acestor experiențe sînt practic imposibil de executat.

Evidențierea amidonului și glicogenului. Amidonul și glicogenul sînt polizaharide caracteristice țesuturilor de rezervă vegetale (amidonul) și animale (glicogenul).

Amidonul poate fi extras extrem de simplu din făina de grîu prin spălare (experiența de preparare a glutenului). Apa de spălare o reținem într-un vas și o lăsăm să se decanteze. Înlăturăm surplusul de apă, iar amidonul rămas pe fundul vasului îl resuspendăm prin agitare într-un vas conic Erlenmeyer. Lichidul obținut se încălzește pînă la obținerea cleiului de amidon. Dacă cleiul îl tratăm cu iodo-iodură de potasiu sau cu o soluție alcoolică de iod se va colora în albastru. Dacă soluția s-a colorat prea intens, se poate dilua cu apă.

Scanned with OKEN Scanner

Glicogenul se poate prepara din mușchiul animal astfel : aproximativ 20 g de mușchi tăiat în bucăți se pun într-o capsulă de porțelan și se fierb în 90 ml apă distilată, la care se mai adaugă 10 ml de hidrat de sodiu 10%. Fierberea durează 10—15 min, în care timp amestecăm totul cu o baghetă de sticlă. După răcire fiertura o neutralizăm cu acid clorhidric (5%), adăugat picătură cu picătură. *ph*-ul îl controlăm cu ajutorul hîrtiei de turnesol, apoi precipităm proteinele prin mijlocirea unor soluții apoase de săruri ale metalelor grele, de exemplu 20—30 ml de iodură dublă de potasiu și mercur. Se decantează, iar lichidul obținut se filtrează. Peste filtrat (3 ml) se adaugă alcool absolut (6 ml). Glicogenul va precipita. Separarea lui din suspensie poate fi accelerată prin centrifugare (10 min. cu 2 000/ture pe minut). Glicogenul obținut se dizolvă într-o eprubetă în 2—4 ml de apă distilată. Dacă se adaugă soluției 1—2 picături de iodo-iodură de potasiu, se obține o culoare brună caracteristică pentru prezența glicogenului.

1.2. METABOLISMUL

Biosintezele și asimilația. Sistemele vii se află într-un permanent schimb de substanță, energie și informație cu mediul exterior. Ansamblul proceselor fizice și chimice din interiorul sistemelor vii, întreținut de aceste transformări se numește *metabolism*. Realizarea metabolismului depinde de permanenta existență a două procese contrarii, strîns legate unul de altul, anabolismul și catabolismul. La nivelul molecular de organizare a sistemelor vii în timpul anabolismului se petrec biosintezele : reacții chimice care necesită energie, precum și un sistem oarecare de transmitere a informațiilor. Rezultatul biosintezelor este formarea unor molecule mai complexe (compuși micro și macromoleculari organici) din altele mai simple. Toate biosintezele care au loc într-un sistem viu individual (organism uni sau pluricelular) prin integrare alcătuiesc procesul de asimilație. Din punct de vedere al asimilației diferitelor elemente chimice, dar preponderent a carbonului și a compușilor săi, distingem două tipuri de nutriție : autotrofă și heterotrofă. Autotrofia, la rîndul ei, este de două feluri : chemosinteza și fotosinteza. Heterotrofia se înfăptuiește prin mijloace foarte variate de procurare a hranei.

Dezasimilația și bioenergetica. Menținerea organismelor în stare vie necesită o continuă cheltuială de energie. Organismele în calitatea lor de sisteme fizico-chimice complexe (cibernetice), pentru a se păstra în stare de bună funcționare, pot utiliza un singur fel de energie cu randament maxim : energia potențială a unor reacții chimice. Plantele verzi captează energia radiantă solară din partea vizibilă a spectrului cu ajutorul pigmenților asimilatori, dar în cloroplast aceasta este rapid convertită în energie chimică potențială a compușilor organici, mai ales de tipul glucidelor. În timpul fotosintezei se inițiază în sistemele vii un curent de electroni, care prin intermediul produșilor primari se continuă în procesele de fermentație și respirație. Cantitatea de energie pusă în libertate de aceste două procese catabolice, este folosită de organisme în diferite scopuri : pentru a sintetiza noi compuși organici (în biosinteză), pentru a construi noi structuri, a le întreține pe cele existente sau a le repara, pentru a menține stocul și curentul de informații.

Scanned with OKEN Scanner

1.2.1. Studiul fotosintezei

Principalul proces prin care se realizează asimilația în lumea vie este fotosinteza.

În timpul fotosintezei pigmenții asimilatori (clorofilele a și b, carotenul și xantofila) absorb lumina din partea roșie și albastră a spectrului. Se știe că clorofila a și b, printr-un proces complex, converg energia radiațiilor electromagnetice în energie chimică potențială. Acest proces complex este însoțit de consumarea dioxidului de carbon, drept materie primă pentru producerea de substanță organică și eliminarea de oxigen.

Materiale necesare : plante acvatice, eprubete, pîlnii, vase cilindrice de sticlă, negativul unui film, foițe de staniol, mușcată în ghiveci, bec electric de 100—150 wați cu instalație de iluminare, ecrane de sticlă colorată sau celofan, alcool etilic absolut, soluție de iodo-iodură de potasiu, capsule de porțelan, bec de gaz.

Mod de lucru. În laborator procesul de fotosinteză poate fi cercetat de către profesori și elevi prin două demonstrații : evidențierea oxigenului eliminat de plante și evidențierea amidonului acumulat în timpul fotosintezei.

■ **Evidențierea oxigenului eliminat de plante în timpul fotosintezei.** Din acvariul școlii sau din altă parte ne procurăm plante acvatice, de preferință Elodea. Detașăm o ramură de Elodea și o legăm ușor de o baghetă de sticlă. Apoi o introducem cu vîrful în jos într-o eprubetă umplută cu apă de robinet, în așa fel încît suprafața de detașare a ramurei să se afle cu 2—5 cm sub nivelul apei. Iluminăm eprubeta într-o încăpere obscură cu un bec electric de 100—150 wați, la o distanță de circa 10 cm. În scurtă vreme, prin partea secționată a ramurei se vor elimina bule de gaz (oxigen), a căror viteză de degajare pe minut poate fi determinată prin numărare. Dacă folosim ecrane colorate de sticlă sau celofan (albastre, verzi și roșii), putem să evidențiem rolul diferitelor regiuni ale spectrului în fotosinteză.

Dacă instalăm mai multe ramuri de plante acvatice sub o pîlnie așezată cu gura în jos, într-un vas cilindric de sticlă, umplut cu apă pînă la gură, oxigenul eliminat poate fi captat într-o eprubetă plină cu apă așezată deasupra tubului de evacuare a pîlniei. Putem să intensificăm procesul fotosintezei prin îmbogățirea apei în dioxid de carbon. Aceasta se realizează, dizolvînd în mediul acvatic o cantitate redusă de carbonat acid de sodiu, încît să obținem o soluție de 0,1%. Vasul se așază în lumina solară directă sau a cîtorva becuri de 100—150 wați. Oxigenul colectat în eprubetă se poate evidenția în felul următor : în momentul cînd eprubeta s-a umplut 2/3 cu gaz, se desprinde de pîlnie, acoperindu-i gura cu degetul și se introduce repede în eprubetă un băț de chibrit înroșit, care arde fără flacără. Ajuns în eprubetă, datorită prezenței oxigenului, chibritul va genera o flacără puternică.

■ **Evidențierea amidonului acumulat în timpul fotosintezei.** Unul din principalii compuși organici, frecvent produs în fotosinteză, este amidonul, polizaharidul de rezervă a multor organisme vegetale.

Înainte de a executa experiența trebuie să ținem ghivecele cu mușcată la întuneric 1—2 zile. În acest răstimp, organismul vegetal consumă, prin respirație, întreaga sa rezervă de amidon din frunze.

Scanned with OKEN Scanner

Pregătim în laborator cîteva foiţe de staniol, din care decupăm figuri geometrice, ori litere, sau detaşăm un clişeu negativ dintr-o peliculă fotografică. Într-o cameră iluminată slab marcăm cîteva frunze de muşcată astfel : — dacă ne folosim numai de foiţele de staniol, avem grijă ca faţa superioară a frunzei să fie acoperită cu o foiţă din care am decupat o parte, pe cînd faţa inferioară trebuie complet acoperită ; dacă ne folosim de pelicula fotografică o aplicăm pe faţa superioară a frunzei, iar pe cea inferioară o acoperim complet cu staniol. Frunzele astfel pregătite le expunem timp de 1—2 ore la lumină solară sau la lumina mai multor becuri de 100—150 de waţi. După acest răstimp detaşăm frunzele acoperite şi cîteva din cele neacoperite şi le fierbem în apă 2—3 min, pentru a omorî celulele vii. Continuăm apoi fierberea în alcool etilic pînă la extragerea completă a pigmenţilor asimilatori. După răcire, frunzele se spală cu apă şi se scufundă într-o soluţie de iodo-iodură de potasiu. Frunzele iluminate complet se colorează în albastru, datorită prezenţei amidonului (se poate observa şi la microscop) ; cele acoperite complet rămîn incolore, iar cele cu figuri decupate, sau, mai spectaculos, cele care au avut bucăţi de film negativ, se albăstresc numai în porţiunile care au primit lumină. Intensitatea colorării depinde de cantitatea de lumină primită în timpul celor 2 ore. În cazul filmului negativ, aceasta este variabilă în conformitate cu densitatea granulelor din peliculă şi pe frunză vom obţine o fotografie pozitivă în tonuri albastre. Experienţa dovedeşte că substanţa organică nu se sintetizează decît în părţile luminate ale frunzei.

1.2.2. Studiul respiraţiei

Reversul fotosintezei este respiraţia, proces prin care organismul utilizează energia chimică potenţială a diverşilor compuşi organici. În timpul respiraţiei se consumă oxigenul, care se combină cu substanţa organică şi se formează dioxidul de carbon.

Materiale necesare : seminţe de orz, grîu, porumb în curs de germinaţie, vase cilindrice de sticlă cu capac, clopot de sticlă, hidrat de bariu 7%.

Mod de lucru. Metoda cea mai simplă de evidenţiere a respiraţiei se întemeiază pe identificarea dioxidului de carbon.

■ **Evidenţierea respiraţiei organismelor vegetale şi animale.** Într-un vas cilindric de sticlă prevăzut cu capac se aşază seminţe de grîu, orz sau porumb în curs de germinaţie, ori alte organe de plante lipsite de clorofilă : ciuperci, tuberculi de cartofi, rădăcini de morcovi, petale. După un timp se consumă tot oxigenul din vas şi rămîne un amestec de dioxid de carbon şi azot, care nu întreţine arderea. Dacă îndepărtăm cu grijă capacul şi introducem rapid în vas o lumînare aprinsă, aceasta se va stinge datorită lipsei oxigenului.

Dioxidul de carbon eliberat în timpul respiraţiei se poate pune în evidenţă şi cu ajutorul hidratului de bariu. Într-o capsulă de porţelan sau cristalizor de sticlă se pune o soluţie de hidrat de bariu 7%. Recipientul cu hidratul

Scanned with OKEN Scanner

de bariu se introduce în vasul de sticlă închis, în care se află material vegetal viu. După un timp se constată formarea carbonatului de bariu insolubil, care precipită în soluția de hidrat de bariu.

Metoda evidențierii dioxidului de carbon prin precipitarea carbonatului de bariu poate fi folosită și în cazul organismului animal. Un animal (șoarece sau șobolan de laborator, cobai) se așază sub un clopot de sticlă, în care am atîrnat o capsulă cu hidrat de bariu. În scurtă vreme va apărea precipitatul de carbonat de bariu insolubil în apă.

1.3. EREDITATEA

Prin ereditate se înțelege fenomenul de transmitere a caracterelor morfologice, biochimice, fiziologice, de comportament, din generație în generație, de la părinți la descendenți. În acest proces nu este transmis ca atare un caracter sau altul, ci capacitatea de a dezvolta aceste caractere la descendenți. Se știe, de pildă, că organismul uman pornește în dezvoltarea sa ontogenetică de la celula-ou (zigot) — rezultat al unirii în procesul fecundației a gameților de sex opus. Este de neconceput existența la nivelul unei celule a unor caractere morfologice, cum ar fi, bunăoară, ochi albaștri, negri sau căprui sau păr creț, păr neted, blond, castaniu sau negru etc. Dar la nivelul acestei celule „ceva" a fost transmis, prin intermediul gameților, de la părinți, iar acest „ceva" va face ca, în dezvoltarea ulterioară a zigotului, să condiționeze apariția la copii a caracterelor părinților.

Prin fenomenul eredității se asigură continuitatea speciilor, păstrarea relativ constantă a caracterelor lor, de-a lungul unor perioade mari de timp, uneori de mărimea erelor geologice. La baza fenomenului ereditar stau substanțe chimice complexe, localizate, în special, în nucleul celulei, care au fost numite acizi nucleici.

1.3.1. Acizii nucleici — substratul chimic al eredității

1.3.1.1. Structura chimică și fizică a acizilor nucleici

Există două categorii de acizi nucleici : acidul dezoxiribonucleic (ADN) și acidul ribonucleic (ARN). Acizii nucleici sînt substanțe macromoleculare (rezultate din polimerizarea unor mononucleotide) reprezentînd de fapt niște polinucleotide.

Nucleotida reprezintă o combinație dintre o bază azotată, o pentoză și un radical fosforic.

Bazele azotate sînt substanțe organice care au în structura lor nucleu purinic sau pirimidinic (fig. 1). În compoziția ADN-ului intră două baze

Scanned with OKEN Scanner

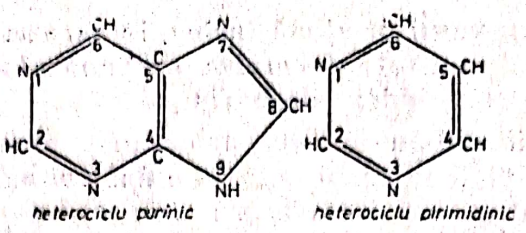
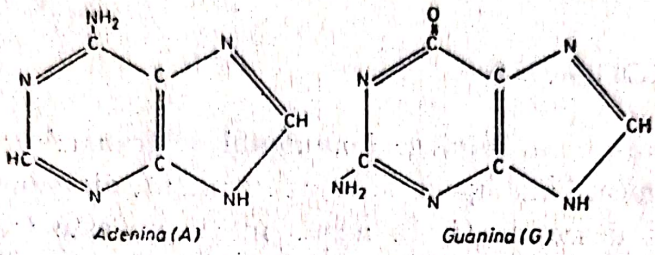


Figura 1. Nucleu purinic și pirimidinic.



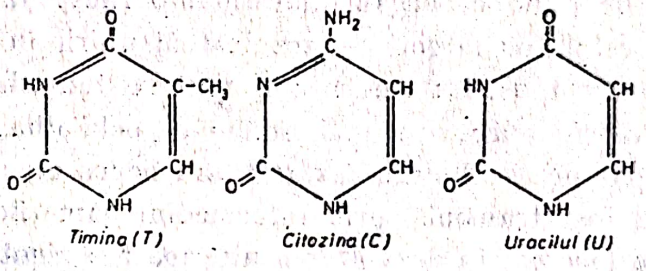


Figura 2. Bazele azotate din structura acizilor nucleici.

azotate purinice — adenina (A) și guanina (G) și două baze azotate pirimidinice — timina (T) și citozina (C) (fig. 2).

În compoziția ARN-ului intră două baze azotate purinice — A și G — aceleași ca la ADN — și două baze azotate pirimidinice — uracilul (U) și citozina (C).

Pentozele (fig. 3) sînt reprezentate prin dezoxiriboză — care intră în structura ADN-ului — și riboză — care intră în structura ARN-ului.

În ambele tipuri de acid nucleic mai intră și radicalul fosforic (fig. 4), care, împreună cu baza azotată și pentoza, formează nucleotida (fig. 5).

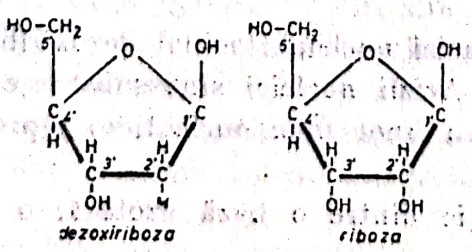


Figura 3. Formula chimică a pentozelor (cifrele indică poziția atomilor carbon).

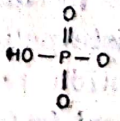


Figura 4. Radical fosforic.

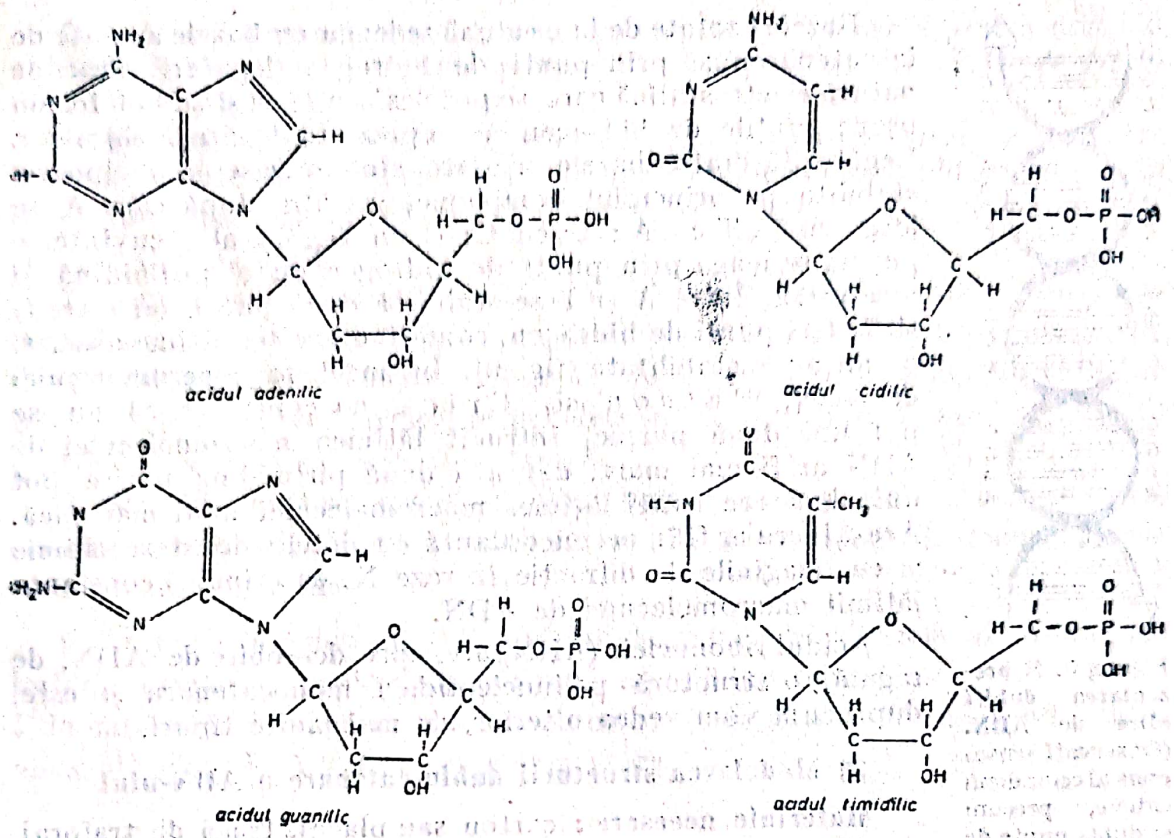


Figura 5. Dezoxiribonucleotidele pentru ADN.

Analizînd raportul cantitativ al bazelor azotate din ADN-ul provenit de la diferite specii, Chargaff a făcut o interesantă descoperire: acest raport este foarte variabil în ADN-ul care provine de la diferite specii, dar foarte constant în ADN ce provine de la diferite țesuturi ale aceluiași organism. Mai mult, în toate probele de ADN analizate, raportul A/T și G/C, deci al bazelor purinice și al bazelor pirimidinice, este apropiat de unitate.

Asbury (1938), folosind metoda difracției în raze X, a ajuns la concluzia că macromolecula de ADN este un lanț lung de unități care se repetă. Wilkins și colaboratorii săi (1950), folosind aceeași metodă, precum și analiza cristalografică, au ajuns la concluzia că ADN-ul are o structură helicoidală, dublu — catenară (planșa I).

Sintetizînd în mod strălucit aceste date și folosind metoda modelării (machetei), Watson și Crick au elaborat în 1953 un model unanim acceptat privind structura dublu-catenară, helicoidală, a macromoleculei de ADN. Aceasta are o lățime constantă de 20 Å, pasul elicei are 34 Å, iar distanța dintre două nucleotide succesive este de 3,4 Å, ceea ce înseamnă că într-un pas al elicei intră 10 nucleotide. Cele două catene sînt răsucite una în jurul celeilalte, după un ax virtual, una avînd mers ascendent, cealaltă mers descendent. Sensul de răsucire al catenelor este dat de natura legăturilor dintre dezoxiriboză și radicalul fosforic (3′—5′ pentru o catenă și 5′—3′ pentru catena complementară), prin care se formează punți fosfodiesterice.

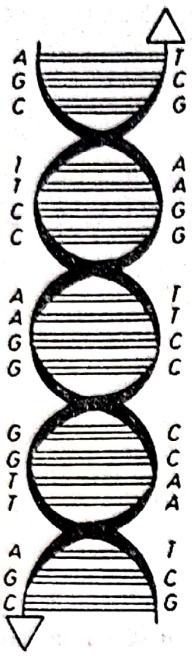


Figura 6. Reprezentarea dublei elice de ADN. (Observați sensul opus al celor două catene, precum și dubla punte de hidrogen între A și T și tripla punte de hidrogen între C și G.)

Bazele azotate de la o catenă se leagă cu bazele azotate de la catena opusă prin punți de hidrogen (legături slabe de natură electrostatică care se pot desface ușor și se pot forma ușor; punțile de hidrogen nu reprezintă legături chimice). Legăturile dintre bazele azotate sînt precise și reciproce, stabilite pe principiul complementarității, după care A se leagă cu T; T cu A; G cu C; C cu G. Cu alte cuvinte, o purină se leagă prin punți de hidrogen cu o pirimidină și vice-versa. Între A și T se stabilesc două punți, iar între G și C, trei punți de hidrogen, conferind acestei ultime asocieri o mai mare stabilitate (fig. 6). În macheta macromoleculei de ADN, Watson și Crick au constatat că nu se pot uni două purine, întrucît lățimea macromoleculei de ADN ar fi mai mare, dar nici două pirimidine nu se pot uni, deoarece astfel lățimea macromoleculei ar fi mai mică. Acest lucru ar fi în neconcordanță cu datele de stereochimie și cu imaginile de difracție în raze X, care indică constanța lățimii macromoleculei de ADN.

Acidul ribonucleic (ARN) are, spre deosebire de ADN, de regulă, o structură polinucleotidică monocatenară și este, după cum vom vedea ulterior, de mai multe tipuri.

■ Modelarea structurii dublu-catenare a ADN-ului

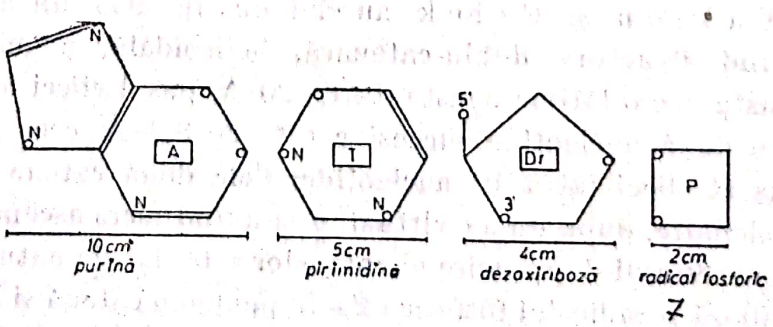
Materiale necesare: carton sau placaj, trusă de traforaj, echer, compas, patru culori diferite, sîrmă de cupru sau aluminiu de diferite grosimi, ace cu gămălie.

Mod de lucru. 1. Desenarea pe carton sau pe placaj a modelului adeninei, guaninei, timinei și citozinei — dimensiunea 5—10 cm (5 cm pentru pirimidine și 10 cm pentru purine) (fig. 7).

2. Decuparea modelului fiecărei baze azotate și colorarea modelelor: A = galben, T = negru, G = roșu, C = albastru.
Se realizează circa 30—40 copii pentru fiecare bază azotată.

3. Desenarea modelului dezoxiribozei sub forma unui hexagon ca cel din figura 7, cu stabilirea poziției carbonului 3′ și 5′ (care apare ca o prelungire a hexagonului la unul din capetele sale ascuțite). Efectuarea a 30—40 copii.

4. Desenarea unui pătrat cu latura de 3—4 cm, reprezentînd radicalul fosforic. Efectuarea a circa 30—40 copii.



7

Figura 7. Modelarea componentelor ADN-ului.

Scanned with OKEN Scanner

5. Folosind figura 7, stabiliți o succesiune de baze azotate pentru una din catenele dublei elice (de exemplu A, G, C, T, T, A, A, G, C, T, T, A, A, T, A, T, T, A, G, G, G, C, C, A, A).

6. Pe principiul complementarității, stabiliți cu ajutorul decupajelor bazelor azotate succesiunea de pe catena complementară (de exemplu, în cazul dat mai sus ea va fi: T, C, G, A, A, T, T, C, G, A, A, T, T, A, T, A, A, T, C, C, C, G, G, T, T).

7. Legați bazele azotate de la cele două catene complementare prin punți de hidrogen (două între T și A, respectiv A—T și trei între G—C, respectiv C—G), folosindu-vă de sîrme mai groase decît cele folosite la legăturile dintre celelalte componente. Sîrmele le prindeți în modelul bazelor azotate la locul potrivit, așa cum se vede în figura 8.

8. Stabiliți legătura dintre modelul bazei azotate și acela al dezoxiribozei cu ajutorul sîrmei, făcînd un orificiu în cele două modele la locul potrivit conform figurii de mai jos.

9. Stabiliți legătura dintre modelul dezoxiribozei și acela al radicalului fosforic, urmărind regula ca la o catenă această legătură să fie de la carbonul 5′ la carbonul 3′, iar la catena complementară de la 3′ la 5′, sugerînd sensul opus al celor două catene complementare.

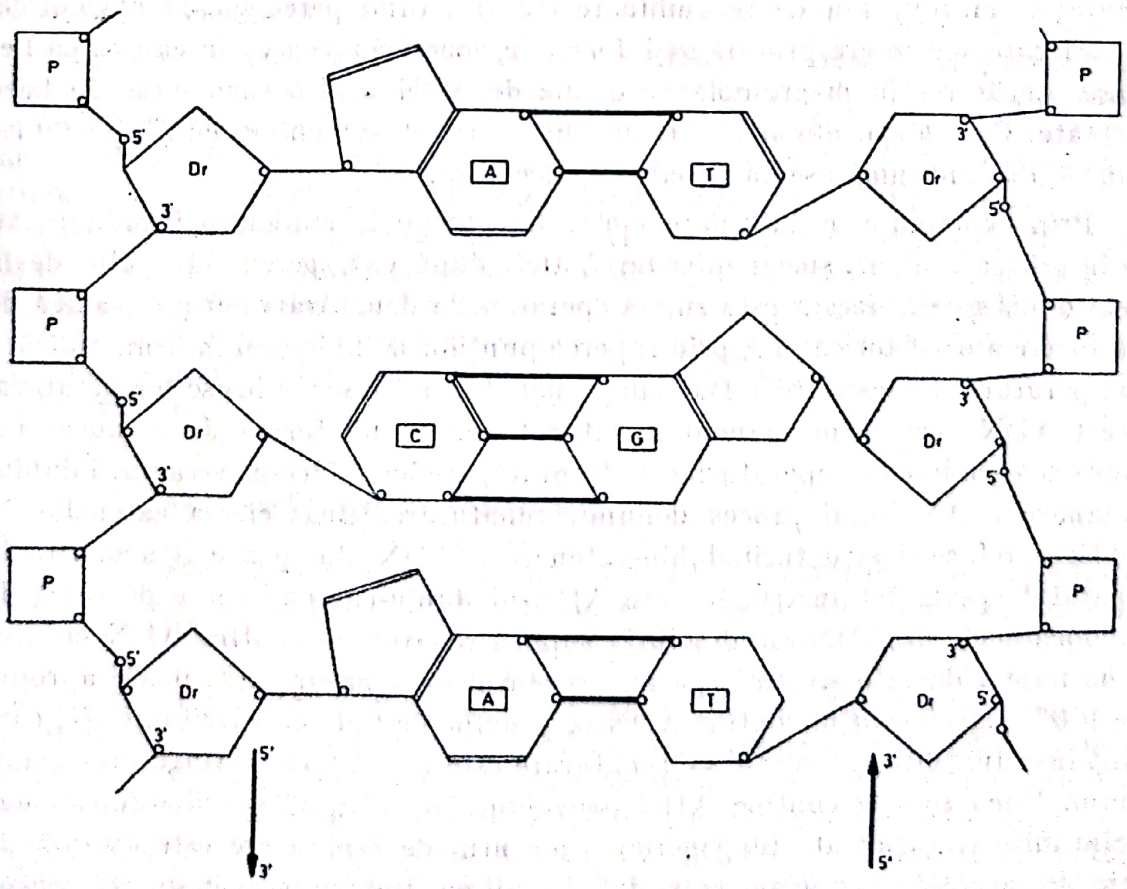


Figura 8. **Modelarea structurii dublu-catenare a ADN-ului.**

Scanned with OKEN Scanner

În felul acesta se obține macheta dublei elice de ADN (fig. 8). Succesiunea bazelor azotate, lungimea sa, precum și dispoziția bazelor pe cele două catene sînt arbitrare.

Toate materialele indicate, ca și soluțiile tehnice folosite, sînt variabile, în funcție de ingeniozitatea și posibilitățile fiecărui experimentator. Pe această bază se poate trece la alcătuirea unui model spațial al ADN-ului, luînd două bare metalice elastice sau din material plastic, pe care le răsucim reciproc după un ax virtual și pe care construim macheta dublei elice de ADN, folosindu-ne de indicațiile date mai sus. Pe barele metalice se pun bazele azotate într-o succesiune pe care o stabilim în prealabil.

10. Încercați să împerecheați purine cu purine și pirimidine cu pirimidine și veți vedea care va fi grosimea machetei rezultate.

Structura dublu-catenară a ADN-ului este deținătoarea informației genetice care controlează realizarea tuturor caracterelor unui organism. În termeni moleculari, informația genetică reprezintă modul în care se succed bazele azotate în macromolecula de ADN, iar gena este definită ca un segment din macromolecula de ADN, de lungime variabilă, care deține sub formă codificată informația genetică ce dirijează sinteza unui lanț polipeptidic și care are subregiuni potențiale de mutație și recombinare, cea mai mică subunitate de mutație (muton) sau de recombinare (recon), fiind perechea de nucleotide.

Fiecare specie are propria sa informație genetică, ceea ce înseamnă că fiecare specie are în macromoleculele sale de ADN o altă succesiune de baze azotate. Cu cît speciile sînt mai înrudite, cu atît secvențele de baze azotate din ADN sînt mai asemănătoare și viceversa.

Prin experiențe de hibridare moleculară se poate evidenția înrudirea sau neînrudirea a două specii diferite. Astfel, după extragerea ADN-ului de la cele două specii, acesta este supus operației de denaturare termică, adică de desfacere a dublelor catene, prin ruperea punților de hidrogen în urma ridicării temperaturii, la peste 70°C. Dacă după denaturare se scade brusc temperatura, acest ADN rămîne permanent denaturat, adică sub formă de monocatene. Dar dacă scăderea temperaturii este treptată, are loc refacerea structurii dublu-catenare a ADN-ului proces denumit renaturare. Reasocierea catenelor în vederea refacerii structurii dublu-catenare a ADN-ului poate fi urmărită la aparatul spectrofotometru, la care ADN-ul dublu-catenar apare deosebit de monocatenele de ADN. Cînd soluția supusă renaturării conține ADN ce provine numai de la o singură specie, procentul de renaturare se poate apropia de 100%. Dacă soluția conține ADN ce provine de la două specii diferite, care sînt însă înrudite, procentul de renaturare este mare, fără a atinge însă maximum. Dacă soluția conține ADN provenind de la două specii diferite, dar neînrudite (îndepărtate filogenetic), procentul de renaturare este extrem de mic. Pe această cale se poate stabili înrudirea dintre om și maimuță, om și șoarece, om și cîine etc.

1.3.1.2. Rolul acizilor nucleici în ereditate

A. Dovezi experimentale privind rolul ADN-ului în ereditate

A.1. Experienţe de transformare

Rolul genetic al ADN-ului a fost descoperit în 1944, de către O. T. Avery, C. M. MacLeod şi M. Mac Carty. Aceşti cercetători au reluat o experienţă rămasă neexplicată a medicului englez Griffith, efectuată încă în 1928, prin care un tip nevirulent (R) de bacterie (*Diplococcus pneumoniae*) s-a transformat în tip virulent (S), atunci cînd bacteria nevirulentă a fost crescută în prezenţa bacteriei virulente (S) omorîtă prin fierbere şi a cărei virulenţă a fost astfel înlăturată.

Cei trei cercetători au avut ingenioasa idee de a creşte bacteria nevirulentă în preznţa ADN-ului extras de la bacteria virulentă, constatînd şi de această dată că se produce transformarea, ca în cazul experienţei lui Griffith. Ei au realizat astfel primul transfer eficient de gene şi au demonstrat totodată rolul genetic al ADN-ului. Cu alte cuvinte, agentul care determină transformarea tipului nevirulent de bacterie în tip virulent este ADN-ul. El deţine în structura sa informaţia genetică care conferă bacteriilor caracterul de virulenţă sau nevirulenţă.

Verificarea experienţei : cînd ADN-ul extras din bacteria virulentă este tratat cu enzima specifică care lizează macromolecula de ADN (dezoxiribonuclează), transformarea nu mai are loc. Cum caracterul de virulenţă se transmite ereditar (de-a lungul generaţiilor) această experienţă a demonstrat pentru prima dată că ADN-ul reprezintă baza chimică a fenomenului ereditar.

Ulterior, capacitatea transformată a ADN-ului a fost dovedită şi la organismele superioare, plante şi animale. Astfel, cînd ADN-ul extras de la rasa de raţe Kaky-Campbell (colorată) a fost introdus intraperitoneal la bobocii de raţă din rasa Pekin (albă) s-a obţinut o nouă rasă de raţe „Albă ca zăpada", cu caracteristici morfologice diferite faţă de rasa Pekin, şi asemănătoare cu unele caracteristici de la rasa donatoare.

A.2. Modelul bacterie – bacteriofag

Bacteriofagii sînt virusuri care atacă bacteriile, distrugîndu-le. Virusurile sînt formaţiuni macromoleculare alcătuite dintr-un miez de acid nucleic (fie ADN, la dezoxiribovirusuri — fie ARN, în cazul ribovirusurilor, dar niciodată ambele tipuri de acid nucleic, deosebindu-se astfel fundamental de toate celelalte sisteme biologice) şi o teacă proteică (fig. 9). Pătrunzînd în celula bacteriană, virusul modifică metabolismul celulei-gazdă, determinînd-o să sintetizeze componentele particulelor virale şi astfel virusul se multiplică. După liza bacteriei ele sînt eliberate şi infectează alte celule (planşa II).

În 1952, A. Hershey şi Martha Chase au marcat cu izotopi radioactivi pe rînd proteinele (cu S^{35}) şi ADN-ul (cu P^{32}). Ei au realizat infecţia bacteriilor, constatînd pe această cale că teaca proteică a virusului (capsida)

Scanned with OKEN Scanner

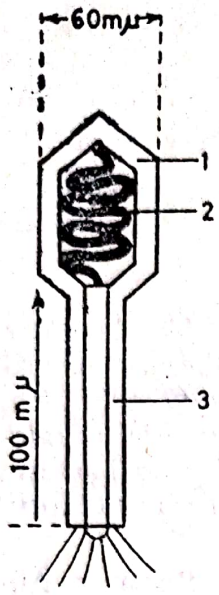


Figura 9. **Model de organizare a unui bacteriofag:** *1* — capsidă proteică; *2* — miez de acid nucleic; *3* — coadă.

rămîne în afara celulei bacteriene atacate și că numai ADN-ul este „injectat" în celula-gazdă (radioactivitatea se pune în evidență în interiorul celulei bacteriene numai în cazul în care ADN-ul fagic este marcat cu P^{32}). Cu alte cuvinte, doar ADN-ul se reproduce în interiorul celulei-gazdă, fără aportul proteinelor virale, rămase în afara celulei bacteriene. Deci, ADN-ul fagic este purtătorul material al caracteristicilor particulei virale, el dirijînd sinteza noilor particule virale în celula-gazdă.

Faptul că ADN-ul este deținătorul informației ereditare rezultă și din constanța sa cantitativă comparativ cu alte macromolecule; ca și numărul de cromozomi, cantitatea de ADN este dublă în celulele somatice și redusă la jumătate în cele reproducătoare. Alte componente macromoleculare ale celulei (proteine, acizi ribonucleici etc.) prezintă variații evidente în diferitele celule ale aceluiași organism.

În sfîrșit, un alt argument privind rolul genetic al ADN-ului este acela al stabilității macromoleculei sale. Odată sintetizată, aceasta nu se dezagregă, ca apoi să se resintetizeze. Un atom odată intrat în macromolecula de ADN n-o mai părăsește decît odată cu distrugerea sa, adică cu moartea celulei. Ea manifestă un model de autosinteză caracteristică, care asigură continuitatea informației genetice. Alte substanțe, cum sînt: proteinele, hidrații de carbon, ARN-ul celular etc., suferă dezagregare și resinteză nemanifestînd stabilitate structurală, nefiind deci deținătoare de informație genetică.

B. ARN-viral — ca material ereditar

Există o categorie de virusuri în care miezul de acid nucleic este reprezentat de ARN. Ele se numesc ribovirusuri. Folosindu-se virusul mozaicului tutunului (V.M.T.), s-a demonstrat că acest tip de ARN-viral este deținătorul informației genetice la aceste particole virale. V.M.T. are formă cilindrică, lungimea de 300 mμ și diametrul 15 mμ.

Separînd proteina virală (capsidă) de ARN-viral și făcînd infecții separate cu cele două componente ale V.M.T, G i e r e r și S c h r a m m (1956) în Germania, concomitent cu F r a e n k a l-C o n r a t și W i l l i a m s în S.U.A., au demonstrat că doar ARN-ul condiționează caracteristicile infecției (tipurile de pete pe frunzele de tutun). Mai mult, folosind două mutante de V.M.T care determinau pe frunzele de tutun pete de tip diferit și făcînd resinteze de particule virale (folosind ARN-ul de la o mutantă și proteina de la cealaltă mutantă și viceversa), ei au demonstrat indubitabil că particularitățile petelor de infecție sînt determinate în exclusivitate de tipul de ARN și nu de proteină (fig. 10).

Concluzie. La ribovirusuri, purtătorul material al informației ereditare este ARN-ul.

Scanned with OKEN Scanner

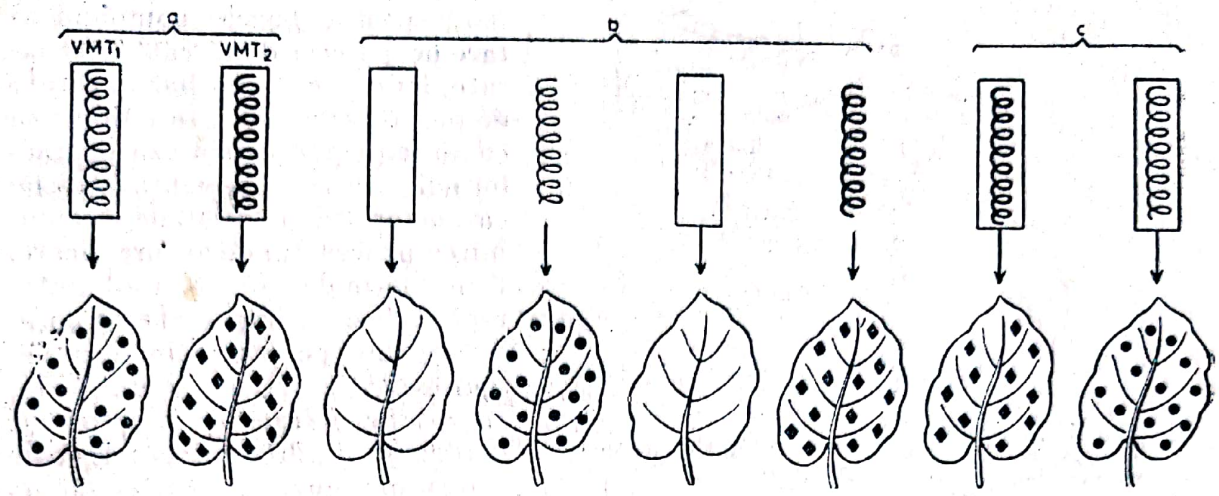


Figura 10. Demonstrarea rolului genetic al ARN-ului viral (la ribovirusuri):

a — VMT_1 şi VMT_2 reprezintă două suşe ale virusului mozaicului tutunului care provoacă infecţia frunzelor de tutun, determinînd pete caracteristice pe acestea : VMT_1 — rotunde, VMT_2 — romboidale ; *b* — disocierea particulelor virale în proteină şi miezul de ARN. Proteina virală nu provoacă infecţii, în schimb ARN-ul viral produce infecţia caracteristică ; *c* — reasamblarea particulelor virale din înveliş proteic de tip VMT_1 şi miez de ARN de la VMT_2 şi viceversa, proteina de la VMT_2 şi ARN de la VMT_1. Caracterul infecţiei este determinat de ARN, nu de proteină.

C. Semnificaţia biologică a structurii dublu-catenare a ADN-ului

Structura dublu-catenară a ADN-ului se bazează pe împerecherea precisă a bazelor azotate complementare (A = T ; T = A ; G ≡ C ; C ≡ G). Această structură dublu-catenară are o semnificaţie biologică de prim ordin : dubla elice de ADN se poate desface în cele două catene complementare prin ruperea punţilor de hidrogen care sînt legături slabe. Fiecare catenă apoi, funcţionînd ca matriţă pe principiul complementarităţii bazelor azotate, îşi poate forma o nouă catenă complementară, refăcîndu-se din nou dubla elice de ADN, în care secvenţialitatea bazelor azotate rămîne intactă. Iau astfel naştere două macromolecule de ADN, identice cu macromolecula originală. Acesta este un mecanism perfect de dublare şi transmitere a informaţiei ereditare de-a lungul generaţiilor celulare, cele două molecule de ADN nou formate fiind repartizate prin mecanismul diviziunii celulare în celule-fiice diferite. Acest mecanism s-a numit replicare sau reduplicare a macromoleculei de ADN. Modelul structurii dublu-catenare a ADN-ului explică, pe de o parte, modul cum este înscrisă informaţia genetică sub formă codificată într-o structură macromoleculară, reprezentată fiind de succesiunea bazelor azotate, iar pe de altă parte, modul cum se transmite prin procesul de sinteză replicativă a ADN-ului, această informaţie ereditară de-a lungul generaţiilor.

Dubla elice de ADN prezintă în sine posibilitatea macromoleculei de ADN de a acţiona ca moleculă autoreplicativă, caracteristică pe care nu o mai are nici o altă macromoleculă în lumea vie (excepţie ARN-viral).

Replicarea ADN-ului se realizează după modelul semiconservativ (planşa III). Începînd dintr-un punct anume (punct de replicare) macromolecula de ADN se separă în cele două catene complementare prin ruperea punţilor de hidrogen, Legăturile de hidrogen rămîn libere. Nucleotidele libere „recunosc" în

Scanned with OKEN Scanner

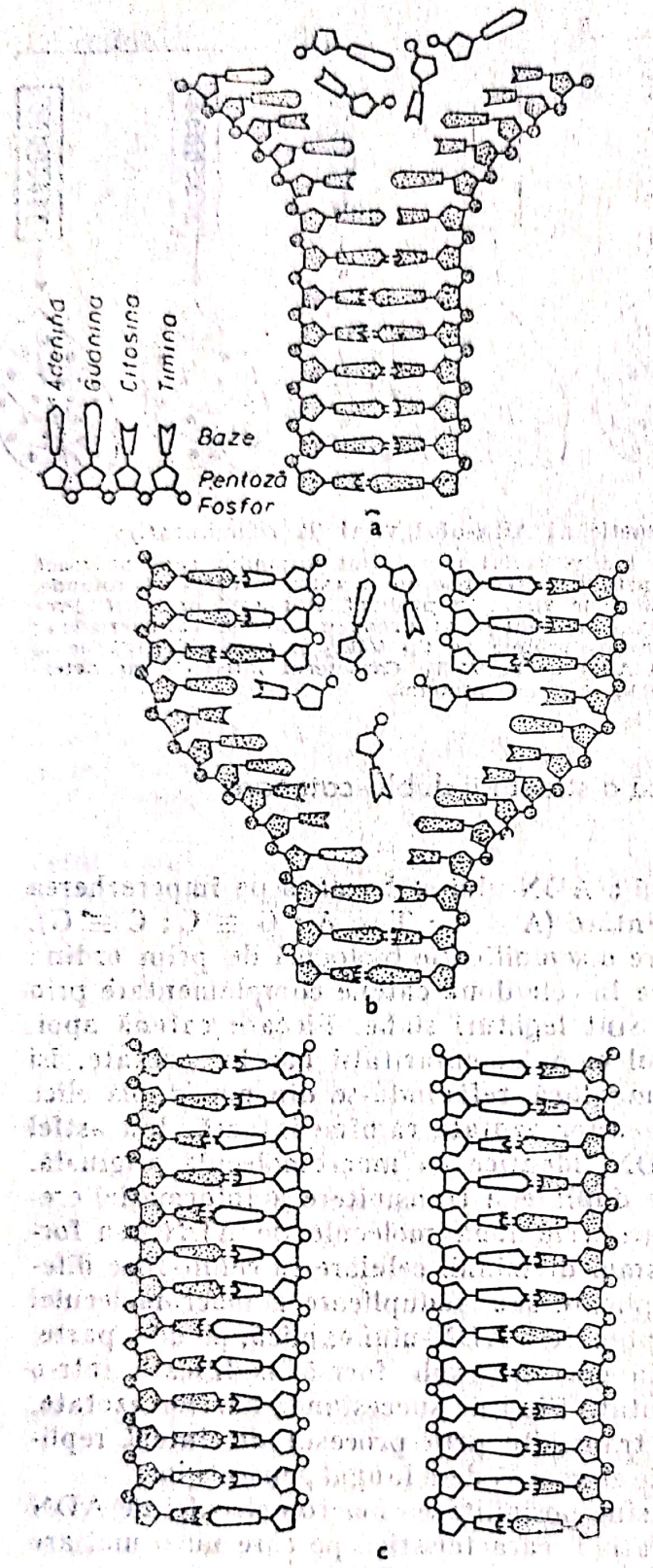


Figura 11. Replicarea semiconservativă a macromoleculei de ADN :

a — deschiderea dublei elice de ADN ; *b* — catenele vechi servesc drept matriță pentru sinteza noilor catene, complementare ; *c* — macromolecule de ADN — fiecare este formată dintr-o catenă veche (punctată) și o catenă nouă sintetizată (albă).

mod specific bazele complementare de pe cele două catene separate, iar secvența de baze azotate de pe catenele vechi funcționează ca matriță pentru sinteza catenelor noi ; acestea reprezintă replicile catenelor vechi, de unde și denumirea procesului de autoreplicare. Punctul nodal în procesul autoreplicării este împerecherea bazelor azotate pe principiul complementarității, precum și unirea lor în catene polimerice, (replici ale catenelor vechi), proces în care intervine enzima ADN-polimeraza. Rezultă două molecule dublu-catenare de ADN, în care o catenă este veche, iar alta este nouă (fig.11). Acesta este modelul semiconservativ de replicare a ADN-ului. Se realizează astfel sinteza autoreplicativă a ADN-ului, fără a fi pierdută informația genetică, deoarece catenele vechi intacte funcționează ca matriță pentru sinteza noilor catene.

Modelul semiconservativ de replicare a ADN-ului a fost demonstrat de către M. M e s e l s o n și F. W. S t a h l (1958) la bacteria *Escherichia coli*.

Autorii au procedat astfel : au cultivat bacteria pe un mediu nutritiv, la care sursa de azot era reprezentată de N^{15} — izotopul neradioactiv, greu, al azotului. normal N^{14}. În timpul sintezei ADN-ului, proces care precede diviziunea celulară, nucleotidele ce conțin N^{15} sînt încorporate în ADN-ul bacterian. După cîteva cicluri de diviziune, cea mai mare parte a azotului normal (N^{14}) din ADN este înlocuită prin izotopul N^{15} (prezent în mediul nutritiv). Din această cauză, ADN-ul devine cu 1% mai greu și mai dens decît este în mod normal. Folosind centrifugarea cu gradient de densitate în clorură de cesiu

Scanned with OKEN Scanner

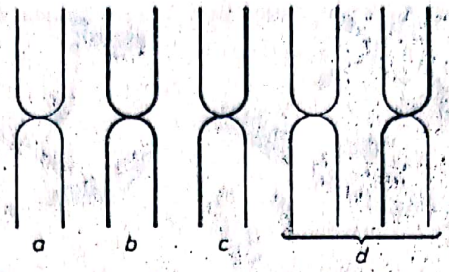


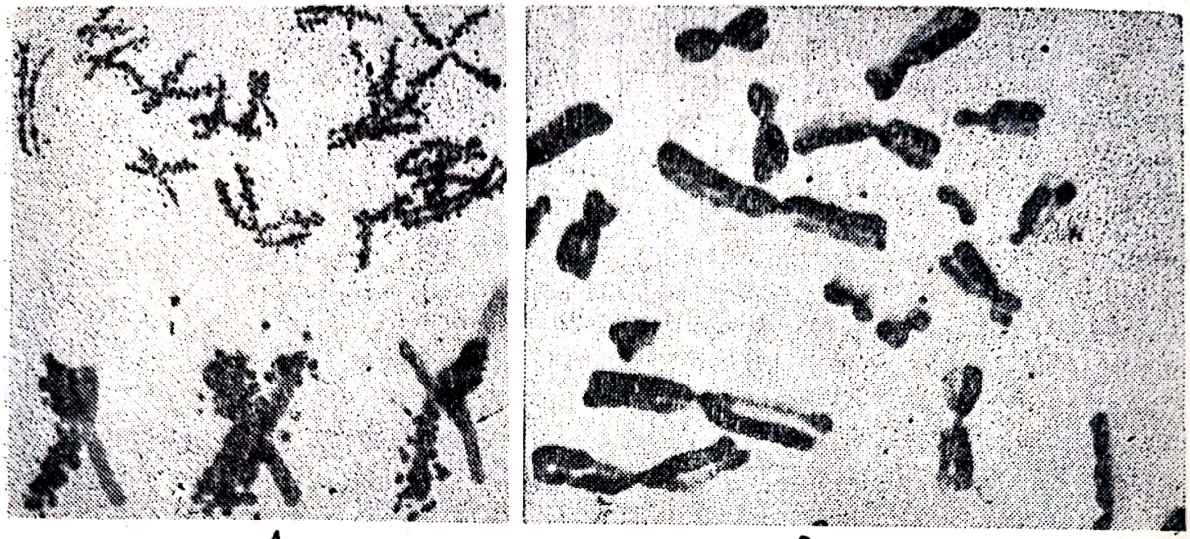
Figura 12. Schema replicării semiconservative a cromozomului eucariotic :

a — cromozom „rece" în radicelele crescute pe mediu fără timidină tritiată. Ambele cromatide sînt neradioactive („reci") ; *b* — cînd radicelele sînt crescute pe mediu cu timidină tritiată, aceasta este încorporată în catenele ADN-ului. Ambele cromatide sînt radioactive ; *c* — radicelele sînt trecute pe mediu „rece", fără timidină și lăsate pentru a avea loc o singură diviziune celulară (o singură replicare). În acest caz toți cromozomii prezintă o cromatidă „rece" și una radioactivă ; *d* — după două diviziuni celulare pe mediu „rece" jumătate din cromozomi sînt neradioactivi pe ambele cromatide, pe cînd cealaltă jumătate prezintă o cromatidă radioactivă și cealaltă „rece".

(CsCl) și analizînd spectofotometric absorbția în UV cu $\lambda = 2\,580$ Å, s-au evidențiat în tubul de centrifugă trei benzi distincte de ADN. După creșterea pe mediu cu N^{15}, bacteriile (al căror ADN, separat în gradient de densitate corespunde în cea mai mare parte azotului greu N^{15}) sînt trecute pe un mediu ce conține azot normal N^{14} unde cresc, își replică ADN-ul și se multiplică prin diviziune binară. ADN-ul acestor bacterii apare intermediar ca greutate între ADN cu N^{14} și ADN cu N^{15}. Cu cît bacteriile sînt lăsate pentru mai multe generații pe mediu cu N^{14}, cu atît va crește procentul de ADN corespunzător lui N^{14} și se va reduce cantitatea de ADN intermediar N^{14}—N^{15}. S-a demonstrat astfel că fiecare moleculă de ADN rămîne intactă în timpul replicației, desfăcîndu-și numai dubla elice în cele două catene, care funcționează ca matriță pentru sinteza unor noi catene complementare, formîndu-se două noi duble elice de ADN, în care o catenă este veche, iar alta este nou sintetizată. S-a confirmat astfel modelul semiconservativ de replicare a ADN-ului sugerat de modelul dublei-elice de ADN, elaborat de către W a t s o n și C r i c k.

Mai apoi, acest model de replicare a fost demonstrat la alga eucariotă *Chlamydomonas*. De asemenea, la eucariote superioare (*Bellevalia romana* și *Crepis capilaris*), T a y l o r (1957—1958) a demonstrat modelul semiconservativ de replicare a materialului ereditar la nivel cromozomal (fig. 12), folosind marcarea precursorului timinei-timidina cu izotopul radioactiv (tritiu) (timidina H^3). În microfotografii se poate urmări distribuția izotopului radioactiv pe cromatidele marcate (fig. 13).

Catenele de ADN nu se separă complet înainte ca să înceapă sinteza catenelor-fiice. Odată ce replicația a fost inițiată, replicația însăși determină separarea catenelor după modelul de deschidere a fermoarului. Nu este încă înțeles mecanismul de control al inițierii replicării ADN-ului. Se pare că unele molecule — posibil o proteină — determină ruperea punților de hidrogen, inițiind



A B

Figura 13. *A* — **Microfotografie demonstrînd distribuţia timidinei tritiate în cromozomii de ceapă.**

Sus cromozomii sînt uniform marcaţi cu timidina tritiată (ambele cromatide sînt radioactive atunci cînd radicelele de ceapă au fost crescute pe un mediu cu izotop radioactiv). *Jos* apare replicarea semiconservativă (o cromatidă marcată şi alta nemarcată). La penultimul şi ultimul cromozom apar interschimburi între cromatidele surori, ceea ce face ca şi pe cromatida nemarcată să apară segmente marcate şi invers (v. săgeţile).

B — **Replicarea semiconservativă a cromozomilor.**

În metafază la hamsterul chinezesc cu cromozomi marcaţi cu bromodeoxiuridină se remarcă un mod semiconservativ de replicare a cromozomilor. Bromodeoxiuridina (un analog al timinei) este încorporată într-una din catenele ADN-ului (cea care se sintetizează). Similar la nivel cromatidic cromatida nou sintetizată va încorpora în ADN-ul său bromodeoxiuridina în locul timinei. Cînd se colorează cu benzimidazol (Hoechst 33258) sau Giemsa, cromatida care a încorporat bromodeoxiuridina apare slab colorată faţă de cea care a servit ca matriţă (catena veche). Astfel se pune în evidenţă, fără autoradiografie, printr-o coloraţie obişnuită, modelul semiconservativ de replicare a ADN-ului, respectiv a cromozomilor. În microfotografia de mai sus se pot remarca şi schimburi intercromatidice.

separarea catenelor. Replicarea ADN-ului este strict coordonată în celulele normale, ea desfăşurîndu-se în stadiul „S" (de sinteză) al interfazei (intervalul dintre două diviziuni celulare succesive). După replicarea materialului genetic, diviziunea celulară face ca produşii de replicare să fie repartizaţi la două celule-fiice. Mecanismul mitotic de diviziune asigură în mod normal o repartizare echilibrată a acestora. În celulele canceroase se desfăşoară cicluri rapide şi nenumărate de replicare. Pentru replicaţia ADN-ului sînt necesare : o catenă de ADN ce funcţionează ca matriţă, precursorii nucleotidelor şi enzima ADN-polimeraza, care catalizează formarea punţilor între bazele azotate, pe cînd acestea se aliniază pe matriţă. Între două baze azotate succesive, pe aceeaşi catenă, se formează legături fosfodiesterice (între radicalul fosforic şi pentoză).

■ **Exerciţiu practic.** Folosind modelarea descrisă anterior încercaţi să redaţi modelul semiconservativ de replicare a ADN-ului.

D. Structura şi funcţia ARN-ului celular

În celulele procariote şi eucariote există mai multe tipuri de ARN, care joacă diferite roluri în procesul de sinteză proteică, ARN-ul fiind un intermediar — un adaptor — între ADN şi proteine, responsabil pentru transferul

Scanned with OKEN Scanner

și decodificarea informației genetice. Există trei tipuri diferite de ARN celular: ARN-mesager (ARN-m), ARN-ribozomal (ARN-r) și ARN de transfer, solubil sau de transport (ARN-s) (ARN-t). Virtual, în toate cazurile, moleculele de ARN sînt sintetizate pe o matriță de ADN, tot astfel precum sinteza ADN-ului este ghidată de o matriță parentală (catena veche). În cazul ARN-ului, monomerii sînt ribonucleotide, iar enzima ce catalizează includerea ribonucleotidelor în monocatena de ARN se numește ARN-polimerază. Sinteza unei molecule de ARN-m pe matriță de ADN se numește transcriere. În acest proces informația genetică conținută în secvența nucleotidelor din ADN este copiată (transcrisă) în secvența nucleotidelor din monocatena de ARN, pe baza împerecherii bazelor azotate pe principiul complementarității lor (planșa IV).

Toate moleculele de ARN au o structură monocatenară, dar cele de ARN-s pot prezenta și regiuni dublu-catenare.

În procesul copierii informației genetice are loc o desfacere temporară a dublei elice de ADN, pe o anumită porțiune a sa (aceea a cărei informație ereditară trebuie copiată) și doar una dintre catenele ADN funcționează ca matriță pentru sinteza ARN-m. Se formează pentru un moment dat un hibrid molecular ADN-ARN, care ulterior se disociază, molecula de ARN-m desprinzîndu-se de pe catena de ADN, iar ADN-ul își reface structura dublu catenară prin restabilirea punților de hidrogen.

Sinteza moleculelor de ARN-m poate fi repetată de n ori. În acest fel, informația genetică este trecută din ADN în ARN-m, unde se află tot sub formă codificată. Tot pe principiul împerecherii bazelor complementare se bazează un alt proces implicat în biosinteza proteică. Este vorba de traducerea informației ereditare (decodificarea), proces în care secvența de nucleotide (codul genetic) este tradusă într-o secvență de aminoacizi (codul aminoacizilor) din proteine. Informația genetică înscrisă în ADN sub forma codificată a unei secvențe de baze azotate este mai întîi copiată (transcrisă într-o moleculă de ARN-m, complementară uneia dintre cele două catene ale ADN-ului), și apoi tradusă într-o succesiune de aminoacizi din structura primară a proteinelor (polipeptide). În acest proces de decodificare, moleculele de ARN-s joacă rol de adaptor între aminoacizi și ADN — deținătorul informație ereditare.

ARN-s „citește" informația trecută din ADN în ARN-m și introduce aminoacidul în lanțul polipeptidic la locul potrivit, așa cum „dictează" informația ereditară. Fiecare celulă conține cel puțin cîte un anumit fel de ARN-s pentru fiecare aminoacid. ARN-s recunoaște o anumită secvență de baze azotate complementare din ARN-m și se asociază temporar cu acestea tot pe principiul complementarității și al formării punților de hidrogen, plasînd aminoacidul la locul potrivit, în lanțul polipeptidic.

Diferitele caractere ale organismului determinate de informația genetică înscrisă în ADN apar la interacțiunea genotipului (totalitatea informației

Scanned with OKEN Scanner

ereditare) cu mediul. Expresia exterioară a acestor caractere (fenotipul organismului) este, în general, dată de diversitatea calitativă și cantitativă a substanțelor proteice sintetizate de către organism. Principala funcție a ADN-ului de dirijare a sintezelor specifice în organism se adresează, în primul rînd, substanțelor proteice. Sinteza enzimelor-proteine cu rol catalitic, chiar a acelora care intervin în replicarea acizilor nucleici (ADN-polimeraza pentru ADN și ARN-polimeraza pentru ARN), ca și a proteinelor structurale (cu rol esențial pentru organizarea structurală a celulei și organismului), este dirijată de către ADN.

În procesul de recunoaștere a mesajului genetic purtat de ARN-m intervine într-un fel sau altul un alt tip de ARN aflat în ribozomi (sediul sintezei proteice), și anume ARN-ribozomal (ARN-r). Acesta se pare că determină dispunerea spațială a ARN-m și ARN-s, astfel încît acesta din urmă să poată recunoaște secvența corespunzătoare de baze azotate din ARN-m.

1.3.2. Codul genetic

În procesul decodificării informției genetice, realizată în timpul biosintezei proteice, funcționează așa-numitul cod genetic, în care unitățile de codificare (care codifică un anumit aminoacid în sensul că îl determină să fie inclus într-un anumit loc în lanțul polipeptidic) sînt reprezentate de codoni sau triplete.

Un codon este format dintr-o succesiune de trei baze azotate. Potrivit relației $4^3 = 64$, în care 4 reprezintă numărul bazelor azotate din ARN (A, G, C, U), iar 3 — combinările acestora, rezultă 64 posibilități de codificare, deci 64 de codoni sau triplete, care asigură codificarea tuturor celor 20 aminoacizi esențiali ce intră în structura substanțelor proteice.

Intuită inițial teoretic, realitatea codului genetic a fost ulterior demonstrată experimental. Astfel, datele privitoare la mutageneză au arătat că dacă o substanță mutagenă acționează la nivelul ADN-ului, modificînd secvența de baze azotate, va fi modificată și secvența aminoacizilor în lanțul polipeptidic al proteinei, sintetizîndu-se o proteină modificată sau o enzimă nefuncțională. Dacă în urma acțiunii mutagenului este scoasă o pereche de nucleotide din ADN se modifică secvența tuturor triplelor din ARN, schimbîndu-se cadrul de citire al informației genetice (fig. 14).

Asemenea date au scos în evidență remarcabilul fenomen al colinearității dintre secvența bazelor azotate din acizii nucleici și secvența aminoacizilor din molecula proteică.

Acțiunea mutagenului nu schimbă codul genetic (aceleași triplete vor codifica aceiași aminoacizi), ci numai informația genetică, cadrul ei de citire.

Scanned with OKEN Scanner

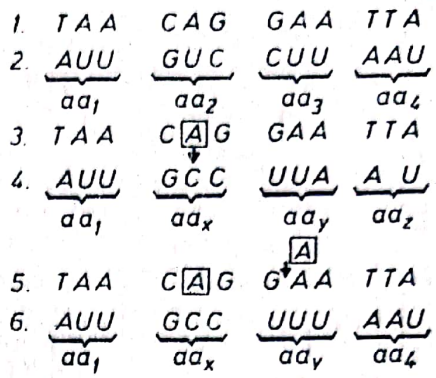

1. TAA CAG GAA TTA
2. AUU GUC CUU AAU
aa1 aa2 aa3 aa4
3. TAA CAG GAA TTA
4. AUU GCC UUA AU
aa1 aax aay aaz
A
5. TAA CAG GAA TTA
6. AUU GCC UUU AAU
aa1 aax aay aa4

Figura 14. Modificarea cadrului de citire a informaţiei genetice :

1 — ADN ; *2* — ARN-m ; *3* — deleţia unei nucleotide ; *4* — modificarea cadrului de citire ; *5* — deleţia urmată de adiţia unei nucleotide ; *6* — restabilirea cadrului de citire ; a $a_1 \rightarrow$ a a_4= =secvenţă normală de aminoacizi în proteină ; a $a_1 \rightarrow$ a a_z =secvenţă alterată de aminoacizi ; a $a_1 \rightarrow$ a a_4=refacerea secvenţei normale de aminoacizi.

Realitatea codului genetic a fost demonstrată şi de sinteza artificială a unor ARN-m.

Introducerea într-un sistem acelular (in vitro) în care se aflau toate componentele sintezei proteice, inclusiv cei 20 aminoacizi esenţiali, a unui ARN-m artificial format numai din uracil (poli-U), a dus la includerea într-un lanţ polipeptidic numai a fenilalaninei, sintetizîndu-se proteina artificială-polifenilalanina. Ulterior s-au realizat şi alţi ARN-m artificiali, poli-A, poli-C, precum şi copolimeri poli-AU, poli-AC, poli-AG etc. Copolimerul poli-CU (...CUCUCUCUCU...) determină includerea în lanţul polipeptidic artificial a leucinei în alternanţă cu serina.

1.3.2.1. Caracteristicile codului genetic

Codul genetic are următoarele însuşiri : *a* — neacoperit (doi codoni vecini nu au baze comune). Secvenţa de triplete AUG, UUU, CUC, GCG, GGG dirijează sinteza unui lanţ polipeptidic format din secvenţa de aminoacizi : metionină-fenilalanină, leucină-alanină-glicină. Dacă ar fi acoperit, codul de mai sus s-ar prezenta astfel : AUG, UGU, GUU, UUU, UUC, UCU şi atunci secvenţa de aminoacizi ar fi cu totul alta : metionină-cisteină-valină-fenilalanină-fenilalanină-serină ;

b — este fără virgule (între două triplete succesive nu există semne de punctuaţie, secvenţa tripletelor fiind continuă) ;

c — este ambiguu (acelaşi codon poate codifica mai mulţi aminoacizi ; de exemplu, codonul GUG codifică valina şi formil-metionina).

— este degenerat (acelaşi aminoacid poate fi codificat de mai multe triplete ; de exemplu, arginina poate fi codificată de 6 codoni diferiţi). Aşa se explică existenţa a 64 de triplete, deşi există doar 20 aminoacizi esenţiali ; există şi codoni (UAA, UAG şi UGA) care reprezintă semnale pentru terminarea lanţului polipeptidic, necodificînd vreun aminoacid (v. tabelul nr. 1).

— este universal (începînd de la virusuri şi terminînd cu omul există acelaşi sistem de codificare şi decodificare a informaţiei genetice ; la toate organismele funcţionează aceleaşi triplete în specificarea aminoacizilor).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul nr. 1

Codul genetic

Prima nucleotidă a codonului (3')	A doua nucleotidă a codonului				A treia nucleotidă a codonului (5')
	U	C	A	G	
U	UUU, UUC } fenil-alanină UUA, UUG } leucină	UCU, UCC, UCA, UCG } serină	UAU, UAC } tirozină UAA-ocru UAG-ambră	UGU, UGC } cisteină UGA-azur UGG-triptofan	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG } leucină	CCU, CCC, CCA, CCG } prolină	CAU, CAC } histidină CAA, CAG } glutamină	CGU, CGC, CGA, CGG } argi-nină	U C A G
A	AUU, AUC } izoleu-cină AUA } metioni-nă sau formil metionină AUG	ACU, ACC, ACA, ACG } treoni-nă	AAU, AAC } asparagină AAA, AAG } lizină	AGU, AGC, AGA, AGC } argi-nină	U C A G
G	GUU, GUC, GUA } valină GUG valină sau for-mil-metio-nină	GCU, GCC, GCA, GCG } alanină	GAU, GAC } acid aspartic GAA, GAG } acid glutamic	GGU, GGC, GGA, GGG } glico-col	U C A G

1.3.3. Biosinteza proteică

Procesul are loc în citoplasmă, la nivelul ribozomilor. Prin el se realizează traducerea mesajului genetic (preluat prin copiere de către ARN-m de la ADN) într-o secvență de aminoacizi (v. planșa IV). În cadrul sintezei ARN-m, ARN-polimeraza se asociază cu ADN. Asocierea se realizează în locul unde începe mesajul genetic, pentru sinteza unei anumite proteine prin intermediul factorului de inițiere σ (sigma), care este un lanț polipeptidic ce intră în structura ARN-polimerazei având o anumită secvență de aminoacizi. În felul acesta enzima desface dubla elice de ADN și una din catenele ADN servește ca matriță pentru sinteza ARN-m. Mesajul genetic începe cu unul dintre codonii AUG sau GUG. O altă polipeptidă specifică din ARN-polimeraza (factorul ρ = ro) recunoaște locul unde se termină mesajul

Scanned with OKEN Scanner

genetic ce dirijează sinteza unei anumite proteine, determinînd încetarea sintezei ARN-m. Dacă mesajul genetic este policistronic, adică format din mai multe gene care dirijează sinteza unor enzime ce intervin în aceeaşi cale metabolică, acesta va fi copiat în întregime de către ARN-m. ARN-m are o existenţă scurtă. Excepţie face ARN-m din eritrocitele anucleate ale mamiferelor, în care ARN-m are o durată de viaţă mai lungă, fiind sintetizat încă din stadiul nucleat al eritrocitului, cînd ADN-ul nuclear funcţionează ca matriţă pentru sinteza ARN-m. După dispariţia nucleului, ARN-m persistă, păstrînd informaţia genetică care dirijează sinteza hemoglobinei.

După sinteză, ARN-m se desprinde de pe ADN şi trece în citoplasmă. Încă înainte de desprinderea de pe ADN şi deci de terminarea sintezei ARN-m, subunităţile mici (30 s) ale ribozomilor se asociază cu capătul liber al moleculei sale, păstrîndu-i starea monocatenară, împiedicînd astfel formarea de structuri secundare cu regiuni dublucatenare care ar îngreuna citirea mesajului genetic de către ARN-s.

Macromolecula de ARN-s constă dintr-un lanţ unic (monocatena polinucleotidică), de circa 90 nucleotide, avînd două capete libere şi prezentînd, acolo unde, în urma răsucirii, bazele complementare stabilesc legături prin punţi de hidrogen, regiuni dublucatenare care alternează cu cele monocatenare. Structura fizică a ARN-s a fost comparată cu o frunză de trifoi. La unul din cele două capete libere (3′) ale macromoleculei se află, la toate tipurile de ARN-s, tripleta CCA, iar la celălalt capăt (5′), tripleta GGG.

Foliolele frunzei de trifoi corespund regiunilor monocatenare. Prima buclă ataşază ARN-s la ribozom. Bucla mare care urmează acesteia reprezintă regiunea anticodonului, fiind complementară codonului din ARN-m şi recunoscîndu-l în mod specific, stabilind cu el legături temporare prin punţi de hidrogen. A treia buclă mare reprezintă locul de ataşare a enzimei aminoacil-sintetaza (care activează aminoacidul), adică locul de cuplare a aminoacidului activat cu ARN-s specific. Fiecare tip de ARN-s este recunoscut de către o enzimă activatoare specifică fiecărui aminoacid.

1.3.3.1. Etapele biosintezei proteice

1. Aminoacidul se cuplează cu ATP-ul şi cu enzima specifică lui :

$$AA_1 + ATP + E_1 \underset{\text{aminoacil-sintetaza}}{\rightleftharpoons} (AA_1 \sim AMP)E_1 + P \sim P$$

Produsul $(AA_1 \sim A\ MP)E_1$ rămîne ferm legat de enzima activatoare (E_1) pînă ce întîlneşte o moleculă de ARN-s specifică, corespunzătoare amioacidului.

$$2.\ (AA_1 \sim AMP)E_1 + ARN\text{-}s_1 \underset{\text{aminoacil-sintetaza}}{\rightleftharpoons} AA_1 \sim ARN\text{-}s_1 + E_1 + AMP$$

Pentru fiecare din cei 20 aminoacizi există o enzimă activatoare specifică. A treia etapă se realizează la nivelul ribozomului :

$$3.\ (AA_1 \sim ARN - s_1 + AA_2 \sim ARN\text{-}s_2 \underset{\text{enzime transferaze}}{\rightleftharpoons} AA_1 \sim AA_2 \sim ARN\text{-}s_2 + ARN\text{-}s_1.$$

Scanned with OKEN Scanner

Între cei doi aminoacizi se realizează o legătură peptidică, primul ARN-t se eliberează, trece din nou în citoplasmă, putîndu-se cupla cu un alt aminoacid. Dipeptida rămîne legată de-al doilea ARN-s pînă ce la nivelul ribozomului vine un alt complex, AA_3 -ARN-s_3, realizîndu-se a doua legătură peptidică ş.a.m.d.

Formarea legăturii peptidice este mediată de enzime numite peptidil-transferaze, necesitînd energie eliberată de către GTP (guanosintrifosfat). La nivelul subunităţii mari 50s a ribozomului se află două regiuni specifice : regiunea aminoacil (A) şi regiunea peptidil (P). Aminoacidul activat intră în ribozom la nivelul regiunii A. Enzima *translocază* catalizează deplasarea complexului AA-ARN-s de la regiunea A în regiunea P şi cînd, la nivelul ribozomului, a pătruns al doilea complex (AA_2-ARN-s_2) se formează legătura peptidică între primul şi al doilea aminoacid. Asociaţi cu macromolecula de ARN-m, numeroşi ribozomi (care formează asociaţia complexă numită polisomi sau poliribozomi) pot să se deplaseze pe aceasta, citindu-se astfel mesajul genetic simultan de către mai mulţi ARN-s, astfel încît sinteza unui lanţ polipeptidic de circa 200 aminoacizi poate dura o fracţiune de minut.

1.3.4. Reglarea activităţii genelor

Precizia, rapiditatea şi extraordinara complexitate a proceselor care se desfăşoară în celulă presupun fără îndoială existenţa unor mecanisme de reglaj (control şi coordonare), care asigură funcţionarea optimă a celulei în funcţie de condiţiile date. Diferitele macromolecule sau molecule mici trebuie produse într-un număr corespunzător, la timpul oportun şi la locul potrivit în procesul de metabolism. Sînt deci necesare precise raporturi structural-funcţionale între acizii nucleici, proteine şi alte substanţe din mediul celular. Pentru sinteza unui singur lanţ polipeptidic intervin nenumărate alte proteine (enzimele). Mecanismul specificităţii genetice (copierea şi decodificarea informaţiei genetice) singur nu poate explica marea diversitate celulară din lumea vie El nu ar putea explica de ce, pornind de la o singură celulă (celula-ou sau zigot) cu o informaţie genetică dată, rezultă, în urma unor diviziuni celulare succesive şi diferenţierii celulare, o mare diversitate de celule (hepatice, renale, epiteliale, conjunctive, nervoase), fiecare avînd structura şi funcţia sa specifică, deşi în fiecare s-a transmis acelaşi set de gene, aceeaşi informaţie genetică. Reiese că fiecare celulă prezintă un mecanism specific de realizare selectivă a expresiei genice, care stabileşte care gene vor fi funcţionale, vor fi exprimate şi în ce cantitate va fi realizat produsul acestor gene Iată, de exemplu, genele care condiţionează sinteza pigmentului ochilor au fost distribuite la diviziunea zigotului în toate celulele. Ele sînt însă funcţionale doar în celulele irisului, în celelalte celule fiind inactivate.

Celulele pot să-şi exercite controlul la oricare din nenumăratele puncte pe distanţa genă-produsul genei. Astfel, în neuroni, ADN-ul nu-şi îndeplineşte funcţia de autoreplicare, avînd doar funcţie de dirijare a sintezei de molecule specifice. Întîlnim aici un caz de extremă diferenţiere celulară. Fenomenul de engramare (formarea de legături temporare) ar fi incompatibil cu diviziunea celulară. Ori replicarea ADN-ului presupune şi diviziune. Pentru îndeplinirea funcţiei esenţiale a neuronului acesta are blocată atît replicarea ADN-ului cît şi diviziunea celulară.

Scanned with OKEN Scanner

Copierea informației genetice în procesul de sinteză a ARN-m poate fi și ea blocată. Astfel, controlul direct asupra mecanismului de transcriere va determina care gene vor fi transcrise (funcționale) și care nu (gene represate). De asemenea, mecanismul de reglaj genetic funcționează și la nivelul decodificării (traducerii informației genetice). Chiar după ce a fost sintetizată, proteina aceasta nu iese de sub controlul celular.

Mecanismul de control celular nu trebuie înțeles ca un proces unidirecțional în care instrucțiunile sale sînt preînregistrate în ADN, dirijînd automat celula spre un punct final predestinat.

Controlul celular rezultă din interacțiunea materialului genetic cu citoplasma și indirect cu mediul exterior. Sistemele biologice au capacitatea retroacțiunii (feed-back), reacționînd la schimbări în starea internă proprie și în mediul extern înconjurător. Cel mai bine înțeles mecanism de reglare este controlul transcrierii ARN-m specific la bacteria *Escherichia coli*. În acest mecanism se întîlnesc două situații : inducția și represia enzimatică (planșa V).

1) *Inducția enzimatică*. Cînd bacteria crește pe mediu cu lactoză, ea produce enzima β — galactozidaza, care desface lactoza în glucoză și galactoză. În absența lactozei din mediu, bacteria produce doar două molecule de β — galactozidază. În prezența lactozei însă sînt produse circa 3 000 molecule de β — galactozidază per celulă.

Acest mecanism de control, care face ca expresia unui produs genic (β — galactozidaza) să se manifeste cînd celula are nevoie de el și numai în cantitatea necesară, a fost descoperit de către F. Jacob și J. Monod (1961) și numit inducție enzimatică.

2) *Represia enzimatică*. Lactoza acționează ca inductor pentru sinteza enzimei β — galactozidaza. Pentru a se explica lipsa producerii enzimei în absența inductorului, cei doi autori au admis existența și intervenția unei proteine pe care au numit-o represor. Acest represor, în absența inductorului, se leagă strîns cu regiunea promotoare a operonului. Operonul deține informația genetică pentru sinteza enzimei. Prin blocarea regiunii sale promotoare este prevenită fizic cuplarea acestei regiuni cu enzima ARN-polimeraza și este blocată inițierea copierii (transcrierii) informației acestei gene de către ARN-m. Cînd lactoza este prezentă în mediu, ea se unește cu represorul făcîndu-l inactiv. În aceste condiții, ARN-polimeraza se cuplează cu regiunea promotoare a operonului, are loc sinteza unui ARN-m, care copiază informația genetică din ADN și dirijează sinteza enzimei β — galactozidaza. În cîteva secunde de la pătrunderea inductorului în celulă începe transcrierea de către ARN-m și la două minute începe producerea enzimei.

A fost izolat represorul care și el este produsul unei gene, gena reglatoare. Interacțiunea represor-inductor este slabă, bazată pe legături de hidrogen, ceea ce face ca represorul să se adapteze rapid la situația existentă în celulă : cuplarea rapidă cu inductorul, cînd acesta este prezent, sau cu regiunea operatoare a operonului, cînd inductorul este absent. Represorul se asociază deci cu o regiune specializată de pe ADN, numită operator, aflată în vecinătatea genelor structurale-constitutive, tot prin legături de hidrogen (v. pl. V).

În metabolizarea lactozei intervin și alte enzime : β — galactozid-permeaza (permite pătrunderea lactozei în celulă) și galactozid-acetilaza, a cărei funcție nu este precis cunoscută. Sinteza celor trei enzime : β — galactozidaza, β — galactozid-permeaza și galactozid-acetilaza este dirijată de informația gene-

Scanned with OKEN Scanner

tică aflată în trei gene structurale (A, B, C). Funcționarea acestor gene (transcrierea informației lor de către molecule de ARN-m) este dependentă de starea regiunii operatoare. Aceasta poate fi funcțională, cînd nu este cuplată cu represorul, sau nefuncțională, cînd este cuplată cu acesta. Ansamblul : regiune promotoare, regiune operatoare și gene structurale alcătuiesc operonul, care reprezintă un bloc de 2-n gene adiacente controlate de aceeași genă reglatoare. În cazul descris mai sus genele A, B, C împreună cu regiunea operatoare și promotorul, formează operonul „lac" al bacteriei *Escherichia coli*. Cele trei gene sînt transcrise deodată, sintetizîndu-se o moleculă unică de ARN-m (mesaj policistronic), care ulterior, cînd este tradus, se desface în molecule separate, ducînd la sinteza de enzime separate.

Gena reglatoare se află pe aceeași macromoleculă de ADN, dar este mai depărtată de operator. Ea deține informația genetică necesară sintezei represorului și această informație este copiată de pe ADN de către o altă moleculă de ARN-m. De multe ori, represorul este activ numai dacă se unește cu o moleculă mică numită corepresor, în absența căruia represorul nu se poate lega de operator, acesta rămînînd funcțional, făcînd ca genele structurale să funcționeze. În acest fel sînt reglate enzimele care intervin în sinteza multor aminoacizi, în care caz corepresorul poate fi chiar un aminoacid. Și alte molecule mici pot scoate din funcție operonul.

În alcătuirea operonului, după cum am văzut, mai intră un element — promotorul — reprezentînd o mică regiune din ADN, adiacentă operatorului, la care se atașază ARN-polimeraza în vederea inițierii transcrierii (sintezei ARN-m). O secvență lungă de pirimidine în ADN poate fi locul asocierii cu ARN-polimeraza, reprezentînd promotorul, factorul σ din ARN-polimeraza unindu-se specific cu regiunea promotorului.

Multe gene la bacterii nu au mecanism de represie, fiind exprimate în mod constant. Ele sînt gene structurale care codifică proteine de care celula are nevoie mereu, în concentrație constantă.

3) *Inhibiție prin produs final.* În afara mecanismului de control prin inducție și represie mai există un mecanism de reglaj numit inhibiție prin produs final (sau prin feed-back), în care produsul final se leagă specific de molecula enzimei, schimbîndu-i conformația (structura terțiară), ceea ce o face inactivă. În acest proces este necesară inhibiția primei enzime ce intervine într-o anumită cale metabolică și astfel nu se mai produce produsul final pînă ce concentrația lui scade, moment în care enzima, fiind din nou deblocată, reîncepe sinteza acelui produs final. Inhibiția prin produs final se realizează mult mai rapid decît represia enzimatică.

La organismele superioare reglajul genetic este mult mai complicat. Celulele acestora au o dezvoltare precis ordonată, de la o celulă embrionară, nediferențiată, la celule foarte specializate în organismul adult. În reglajul activității genice la asemenea organisme un rol deosebit îl are sistemul neuro-endocrin, mai ales, mediatorii chimici, precum hormonii și enzimele care acționează la distanță (sînt produse, de exemplu, în hipofiză și acționează la nivelul pancreasului sau organelor genitale etc.). Atunci cînd este necesară o mare cantitate de proteină, așa cum se întîmplă în ovogeneză, la triton apar fenomene de amplificare genică prin care genele ce dețin informația genetică pentru sinteza ARN-r sînt în mod specific amplificate de mii de ori, fiecare copie servind la sinteza ARN-r, mărindu-se astfel numărul de ribozomi și cantitatea de proteine sintetizate.

Scanned with OKEN Scanner

Materialul genetic al organismelor superioare (cromatina) se află sub două stări reversibile : eucromatină (se colorează doar în mitoză) și heterocromatină (se colorează pe parcursul întregului ciclu celular). Starea de heterocromatinizare este de cele mai multe ori asociată cu inactivarea genelor. Se consideră că la mamifere, o mare parte din gene sînt inactivate. Cînd genele inactive din zonele heterocromatice ajung în urma unor procese mutaționale de schimb de material genetic în regiunile eucromatice, ele pot deveni active. Procesul poate avea și sens opus, gene active din regiuni eucromatice ajunse în regiuni heterocromatice devin inactive. După ultimele cercetări în procesul de represare (inactivare) a genelor, proteinele nonhistone pot juca un rol important la organismele eucariote (care au nucleu adevărat și la care ADN-ul este asociat cu proteinele bazice histone, acestea din urmă, avînd, mai ales, rol structural). În procesul de derepresie, moleculele de ARN pot de asemenea juca un rol important.

1.3.5. Ereditatea la nivel celular

Cu excepția virusurilor, care sînt paraziți de nivel genetic, neavînd metabolism propriu, multiplicîndu-se pe seama componentelor celulei-gazdă parazitate, toate sistemele biologice au o alcătuire celulară. Structura celulară poate fi procariotă (fără un nucleu bine constituit, materialul genetic nefiind delimitat de o membrană nucleară) și eucariotă — prezentînd un nucleu adevărat.

La celulele eucariotelor, la debutul diviziunii, după ce a avut loc în prealabil sinteza replicativă (autosinteza) a ADN-ului, apar cromozomii, purtători ai materialului genetic (ADN) care prezintă pe ei genele. Modificarea structurală sau numerică a lor este corelată cu apariția mutațiilor.

La organismele ce se înmulțesc pe cale sexuată numărul de cromozomi este dublu în celulele somatice (obișnuite) ale corpului și redus la jumătate în celulele reproducătoare (gameți). Celulele somatice au garnitură diploidă (2n) de cromozomi, pe cînd cele reproducătoare au o garnitură haplodiă (n) de cromozomi, ele rezultînd în urma unei diviziuni de reducere a numărului de cromozomi (meioza).

În oricare celulă a organismului există două categorii de cromozomi : cromozomi obișnuiți sau autozomi și cromozomi care determină sexul sau heterozomi. De exemplu, la om în fiecare celulă somatică se află 46 cromozomi, din care atît la bărbat cît și la femeie sînt 44 autozomi, iar doi sînt heterozomi (cromozomi de sex), notați XX la femeie și XY la bărbat. Ovulele vor avea 22 autozomi + X, iar spermatozoizii vor fi de două feluri 22 + X și 2+2 Y. În procesul de fecundare probabilitatea de apariție a sexului femel (ovule 22 X, spermatozoizi 22 X) este egală cu probabilitatea de apariție a sexului mascul (22 X + 22 Y).

La microscopul electronic cromozomul apare sub forma unei fibre nucleohistonice foarte lungi, pliată în fel și chip. Nu este pe de-antregul lămurită ultrastructura cromozomului (fig. 15).

Cromozomi citoplasmatici. În afara cantității esențiale de ADN, localizată la nivelul nucleului, s-a pus în evidență ADN la nivelul unor organite celulare, precum mitocondriile, cloroplastele, kinetozomii. ADN-ul localizat în diferitele organite celulare formează cromozomi citoplasmatici (extranucleari).

Scanned with OKEN Scanner

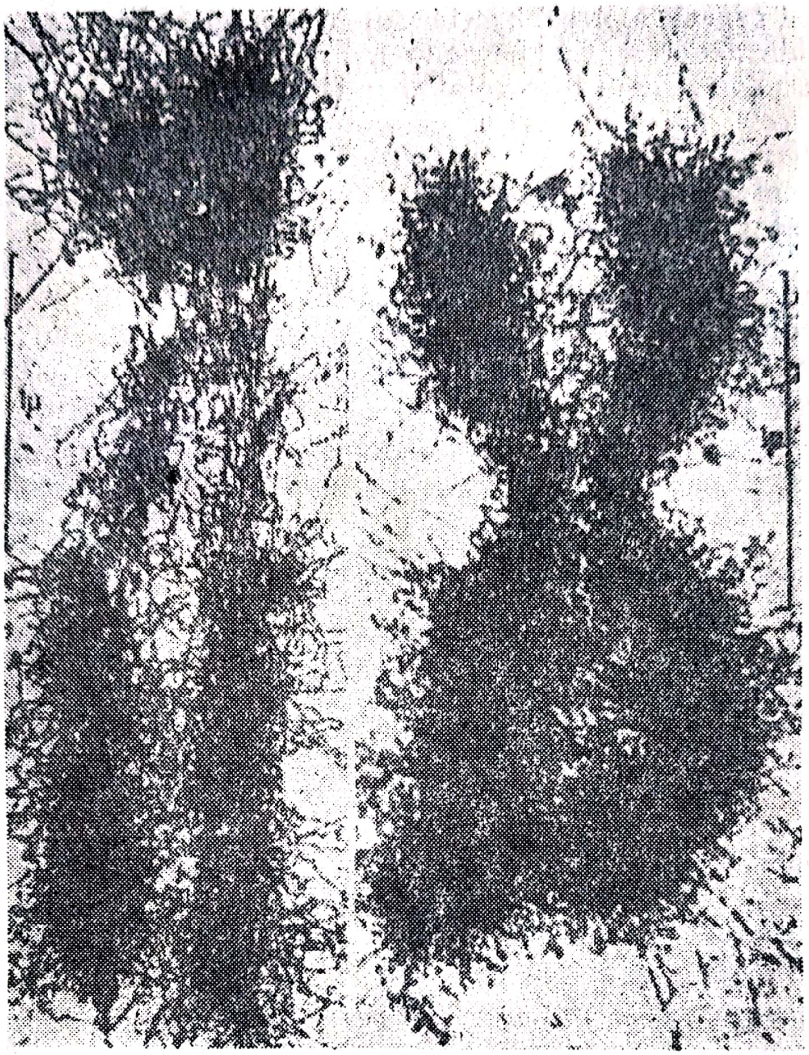


Figura 15. Electronografii ale cromozomilor umani în care se remarcă fibrile de 200—300 Å diametru, pliate în bucle neregulate.

1.3.5.1. Evidențierea cromozomilor în mitoză la plante

■ **Varianta A. Prin metoda rapidă de colorare cu carmin acetic.**

Materiale necesare : cilindri gradați de diferite capacități (10+1 000 ml), pahare Erlenmeyer, balon de sticlă, pîlnie de sticlă, hîrtie filtru, pensă iris, ac spatulat, sticlă ceas pyrex, lame și lamele microscopice, alcool etilic absolut, alcool de 70°, cloroform, acid acetic glacial (a-a-g), carmin, apă distilată, acid clorhidric normal (HCl pur 82,5 ml la 1 000 ml apă distilată), material biologic (bulbi de ceapă, boabe de secară etc.).

Mod de lucru :

1) *Prepararea fixatorului* : alcool acetic 3 : 1 (3 părți alcool etilic absolut + + o parte acid acetic glacial) ;

— soluția Carnoy (6 părți alcool etilic absolut + o parte acid acetic glacial + 3 părți cloroform).

2) *Prepararea colorantului* : soluţia carmin-acetică (apă distilată 55 ml + acid acetic glacial 45 ml + carmin 0,5 g).

Se amestecă aceste componente într-un balon de sticlă, se agită bine, se lasă să fiarbă cîteva minute, se agită din nou şi se lasă să se răcească. Se filtrează şi se păstrează în sticlă brună.

3) *Prelucrarea materialului biologic.* Deoarece cromozomii apar doar în timpul diviziunii celulare, pentru evidenţierea lor vom recolta ţesuturi aflate în diviziune (meristeme la plante, ţesuturi hematopoetice la animale). Pentru evidenţierea cromozomilor la plante ne folosim de meristeme radiculare. Pentru aceasta punem bulbi de ceapă la încolţit (în pahare sau borcane cu apă, imersionînd doar discul-tulpina). În fiecare zi va trebui să schimbăm apa. După cîteva zile, cînd radicelele au atins 0,8—1 cm lungime, le recoltăm. Boabele de grîu, orz, secară etc. le punem la germinat, în cutii Petri, pe hîrtie de filtru îmbibată cu apă. Se detaşează radicele într-o sticlă de ceas pyrex, peste care se toarnă soluţia carmin-acetică. Se încălzeşte la flacăra unei lămpi de spirt, cu grijă, spre a se evita fierberea, pînă ce materialul devine moale şi se colorează intens. Pentru radicelele de cereale, cu membrana celulară mai rezistentă, se adaugă în soluţia carmin-acetică cîteva picături de HCl normal, uşurîndu-se astfel hidroliza materialului.

4) *Efectuarea de preparate microscopice* : a. *Preparate proaspete.* Pe o lamă microscopică, într-o picătură de carmin-acetic proaspăt sau de apă acetică (acid acetic glacial 45%), se detaşează cu ajutorul acului spatulat vîrful radicelei. Se aplică lamela peste vîrful radicelei, se pune o bucată de hîrtie de filtru dreptunghiulară (cu dimensiuni egale cu ale lamei), se apasă apoi uniform cu degetul mare peste hîrtia de filtru şi lamelă, absorbindu-se excesul de lichid şi etalîndu-se totodată celulele. Pentru o mai bună etalare a cromozomilor, peste lamelă se poate bate uşor cu un băţ de chibrit. Preparatul proaspăt se poate păstra de la o zi la alta la frigider, dacă pe marginile lamelei vom pune parafină sau soluţie de lipit cauciuc.

b. *Preparate permanente.* Procedeul este asemănător celui descris anterior pînă la aplicarea lamelei. În acest caz vom pune pe o faţă a lamelei o picătură de albumină glicerinată (amestec omogen de glicerină şi albuş de ou), pe care o întindem sub forma unei pelicule foarte fine. Cu faţa opusă aceleia pe care am întins albumina glicerinată, ţinînd-o cu ajutorul unei pense, trecem lamela prin flacăra unei lămpi de spirt (călcînd flacăra) pentru coagularea albuminei, în vederea reţinerii materialului biologic. Aplicăm lamela, cu faţa pe care se află albumina, peste vîrful detaşat al radicelei şi pentru etalarea materialului se procedează ca mai sus. Apoi, într-o baie cu apă acetică, sprijinită la un capăt pe o bară de sticlă, se pune lama cu faţa pe care se află lamela orientată în jos, pentru desprinderea lamelei de lamă. Materialul biologic este păstrat pe lamelă şi în parte pe lamă, în albumina glicerinată coagulată. Desprinderea lamelei de lamă se face în scopul deshidratării materialului, deoarece prezenţa apei în material este incompatibilă cu păstrarea lui îndelungată.

Cu ajutorul pensei iris se trec lama şi lamela prin cîte două băi succesive de deshidratare după următoarea schemă : alcool etilic absolut ; 1/2 alcool etilic absolut + 1/2 benzen ; benzen.

Trebuie să avem grijă ca faţa lamei pe care se află materialul să fie orientată spre cel care lucrează, iar faţa lamelei pe care se află materialul să fie orientată în sus.

Scanned with OKEN Scanner

În fiecare baie se lasă lama și lamela circa 2′—2 1/2′. La trecerea în baia următoare se scurge lichidul pe marginea paharului sau se absoarbe cu ajutorul hîrtiei de filtru. Cînd s-a ajuns la ultima baie de benzen, fără a mai scurge lichidul, se așază lama în poziție orizontală, pe o bucată de hîrtie de filtru, cu fața pe care se află materialul orientată în sus : se pune o picătură de balsam de Canada peste material sau pe locul unde a fost materialul (mijlocul lamei) și se aplică lamela, avînd pe ea benzen (scoasă din ultima baie de benzen), cu fața pe care se află materialul orientată în jos spre picătura de balsam.

Se potrivește lamela, se apasă ușor cu pensa, pentru a nu rămîne bule de aer în preparat. După evaporarea benzenului, balsamul se usucă, se întărește, nepermițînd pătrunderea apei sau a aerului. În felul acesta obținem un preparat permanent pe care îl păstrăm ferit de praf și lumină. Pentru o bună vizualizare a cromozomilor se folosește un obiectiv de imersie (x 90) și ulei de imersie. Pentru observarea curentă se folosește obiectivul 20 sau 40.

■ **Întrebări și exerciții.** În timp ce se observă la microscop un preparat cu cromozomii în mitoză, apreciați :

— dacă celulele observate se află în același stadiu de diviziune ;

— care sînt fazele cele mai numeroase (profaza ?, metafaza ?) ;

— diferențele de durată între diferitele faze ale diviziunii ;

— numărul cromozomilor ;

— care este deosebirea între cromozomii aflați la sfîrșitul profazei și cei aflați în metafază ;

— care este deosebirea între cromozomii din metafază și anafază.

Desenați celulele aflate în diferite faze ale mitozei.

Estimați raportul nucleu-citoplasmă la celulele din interfază.

■ **Varianta B. Evidențierea cromozomilor prin metoda Feulgen de colorare cu reactiv Schiff.**

Metoda Feulgen este o metodă selectivă, specifică doar pentru ADN. Se colorează doar cromozomii, citoplasma rămînînd incoloră.

Materiale necesare : frigider, termostat reglat la 60°C, cilindri gradați de diferite capacități (10—1 000 ml), fiole de sticlă 1,5 cm diametru și 5 cm înălțime, hîrtie filtru, pensă iris, ac spatulat, lame și lamele microscopice, alcool etilic absolut, alcool de 70°, acid acetic glacial, apă distilată, HCl normal, fuxină bazică, α — bromo-naftalena 25%, colchicină 0,01% ; ca material biologic se vor folosi radicele de ceapă, secară, orz, grîu, porumb etc.

Mod de lucru.

1) *Prepararea colorantului.* Reactivul Schiff este preparat astfel : 1 g de fuxină bazică cristalizată se mojarează pînă ce devine o pulbere fină. Peste pudră se toarnă 200 ml apă distilată în fierbere. Se agită puternic și se lasă să se răcească pînă la 50°C. Se filtrează. Se adaugă 30 ml HCl N (normal) și 3 g metabisulfit de potasiu sub formă cristalizată. Se lasă soluția 24 ore la întuneric în sticlă bine închisă. Se adaugă 0,5 g carbon vegetal pentru decolorarea soluției, lăsîndu-se un minut. Se filtrează prin hîrtie de filtru dublă și se păstrează la frigider în sticlă brună.

2) *Prelucrarea materialului.* Se realizează în mai multe etape :

Scanned with OKEN Scanner

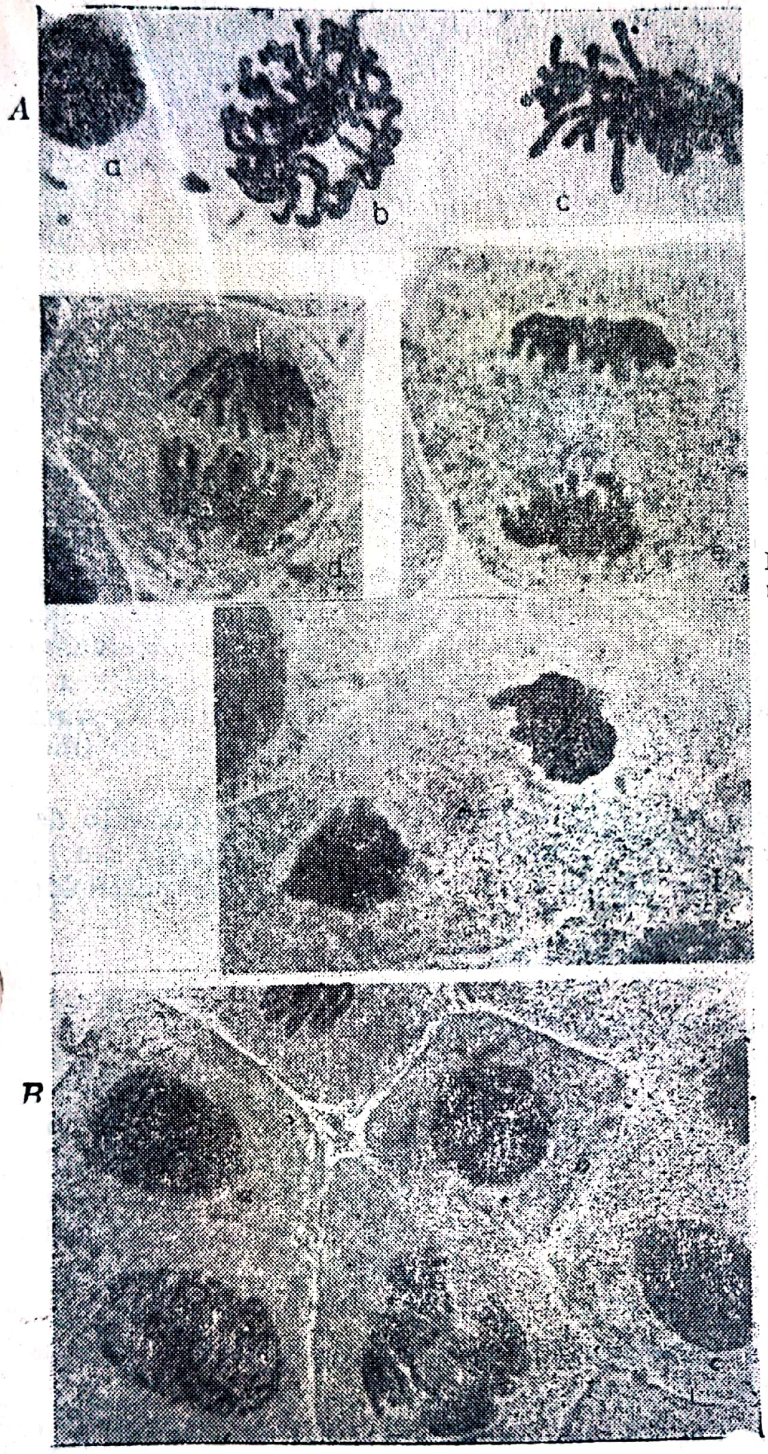


Figura 16. **Mitoza la** *Allium cepa*:

A — succesiunea de faze ale mitozei :

a — interfază ; *b* — profază ; *c* — metafază ; *d* — anafază ; *e* — telofază ; *f* — interchineză cu citodiereză ;

B — un cîmp microscopic fotografiat în care pot fi remarcate :

a, b, c — diferite stadii succesive de sinteză a ADN (v. mărimea variabilă a volumului nucleului) la nivelul nucleului interfazic ; *d* — profază ; *e* — anafază.

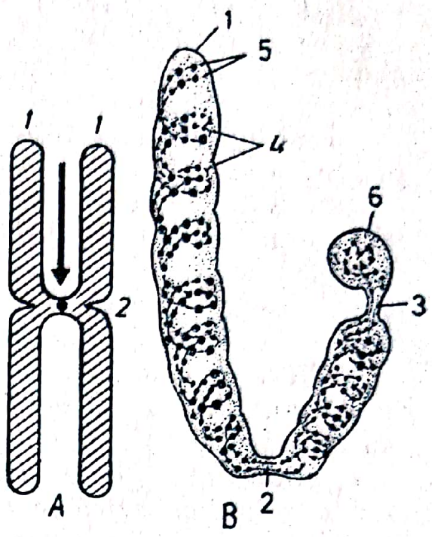


Figura 17. *A* — **Morfologia cromozomului metafazic.** *B* — **Structura cromozomului :**

1 — cromatide ; *2* — centromer (constricție primară) ; *3* — constricție secundară ; *4* — cromoneme ; *5* — cromomere ; *6* — satelit.

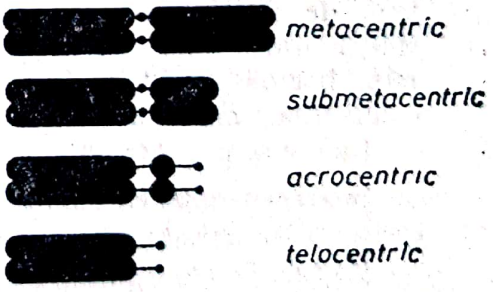


Figura 18. Tipuri morfologice de cromozomi determinate de poziția centromerului.

a. Prefixarea : radicelele detaşate sînt introduse în fiole de sticlă de 5 cm lungime şi circa 20 mm ∅, peste care se pune soluţia de colchicină sau α — bromo-naftalena şi se lasă la frigider 2—3 ore. În lipsa acestor substanţe, prefixarea se realizează în apă distilată la 1—2°C, la gheaţă în frigider.

Scopul prefixării este blocarea formării fusului de diviziune şi îmbogăţirea preparatelor în metafaze — metafaza fiind stadiul cel mai propice studierii cromozomilor, în care morfologia lor este cea mai constantă, atingînd gradul maximum de contractare-condensare. În afara efectului statmocinetic, substanţele menţionate mai pot duce la o largă desfacere a cromatidelor cromozomilor, acestea rămînînd unite la centromer. Se apreciază astfel şi mai clar tipul morfologic al cromozomului.

b. Fixarea omoară celulele şi conservă forma cromozomilor. Se realizează cu un amestec de alcool etilic absolut-acid acetic glacial în proporţie 3 : 1 sau acid acetic 45% la frigider, şi durează 12—15 ore.

c. Hidroliza : scoate grupările aldehidice din ADN, aldehidele unindu-se chimic cu fuxina bazică decolorată, rezultînd o coloraţie roşie-violacee a cromozomilor sau nucleilor interfazici, purtători ai ADN-ului. Operaţia este obligatorie în cazul acestei variante. Reacţia Feulgen-pozitivă este specifică pentru ADN şi în histochimie este o dovadă sigură a prezenţei acestuia în structuri.

Prin hidroliză se realizează şi o macerare a ţesuturilor prin dizolvarea parţială a substanţelor pectice, permiţînd o mai bună etalare a celulelor şi a cromozomilor. Operaţia se realizează la termostat, la 60°C, în HCl N, timp variabil, în funcţie de specie (pentru ceapă 4—5 min, pentru graminee 10—11 min).

d. Colorarea : după hidroliză peste radicele se pune soluţie decolorată de fuxină bazică. Se lasă la temperatura camerei (colorare mai rapidă) sau la frigider (colorare mai lentă), Vor apărea colorate doar vîrfurile radicelelor în roşu-violaceu intens.

e. Efectuarea preparatelor se face aşa cum s-a arătat anterior.

1.3.5.2. Evidenţierea cromozomilor în mitoză la animale

Materiale necesare : seringi medicale, fiole de centrifugă, cristalizor de sticlă cu capac, placă de disecţie, ace cu gămălie, foarfece chirurgicale, bisturiu, termostat reglat la 37°C, centrifugă de laborator la 1 000 turaţii/min, frigider, soluţie Giemsa, alcool metilic absolut, acid acetic glacial, colchicină pulbere sau colcemid, eter, lame microscopice.

La om se pot face culturi de sînge prin recoltarea de sînge periferic.

În cazul cercetărilor efectuate în laboratoare specializate se recoltează măduvă roşie hematopoetică prin puncţie sternală.

Mod de lucru. Se folosesc mamifere mici care pot fi crescute şi în laborator (hamsteri, cobai, şoareci). Se injectează animalul dimineaţa cu o soluţie de colchicină 0,05% intraperitoneal (1 ml soluţie colchicină la 100 g greutate corporală). După circa 1—2 ore colchicina îşi manifestă efectul statmocinetic. Se sacrifică animalul prin asfixie cu eter într-un cristalizor cu capac, în care odată cu animalul, se introduce şi un tampon cu vată îmbibată în eter. Se pune animalul pe o placă de disecţie. Se prind membrele anterioare cu ace. Cu ajutorul foarfecelor chirurgicale se dezarticulează femurele şi tibiile. Se folosesc, mai ales, femurele, deoarece sînt bogate în măduvă roşie hemato-

Scanned with OKEN Scanner

poetică. Se curăță de carne și cu un bisturiu se secționează ambele epifize. Cu ajutorul unei seringi medicale se injectează în diafiză o soluție hipotonă de citrat de sodiu 0,75% (care umflă celulele, permițînd o mai bună etalare a cromozomilor), ținută la 37°C, în termostat. Se recoltează perfuzatul de țesut hematopoetic într-o eprubetă de centrifugă. Se omogenizează prin agitare și suspensia celulară se va ține 40′ în termostat la 37°C. Se centrifughează apoi la 1 000 turații/min, timp de 15′. Se îndepărtează supernatantul. Materialul sedimentat se fixează cu fixator proaspăt preparat, ținut la frigider, (alcool metilic absolut acid acetic glacial 3 : 1) prelingîndu-se pe pereții eprubetei. Se ține la frigider 30′. Se agită pentru resuspendarea celulelor și se centrifughează 15′. După îndepărtarea supernatantului se adaugă fixator proaspăt, rece. Se mai ține încă 30′ la frigider. Se mai pot face două fixări (după ce a stat la frigider peste noapte) în fixator proaspăt. Din ultimul fixator, după omogenizarea suspensiei, se fac frotiuri pe lame microscopice bine degresate ținute la gheață, picurîndu-se cu o pipetă suspensia celulară din fixator, lama ținîndu-se înclinată. Prin trecerea lamei prin flacăra unei lămpi de spirt se aprinde fixatorul și se realizează aderarea celulelor la lamă. Se spală bine frotiurile în apă de robinet și se colorează cu soluție Giemsa, timp de 10—20 min. După colorare, frotiurile se spală bine cu apă de robinet și se lasă să se usuce în poziție verticală.

Notă : soluția Giemsa poate fi procurată de la laboratoarele de bacteriologie ale spitalelor, sau de la laboratoarele de genetică ale universităților.

Se pot face preparate permanente după metoda descrisă anterior.
Fazele diviziunii mitotice sînt ilustrate în figura 16.

1.3.5.3. Structura și morfologia cromozomilor. Cariotipul

La debutul diviziunii cromozomul prezintă două subunități structurale longitudinale numite cromatide, libere pe toată lungimea lor, fiind unite numai la nivelul unei constricții primare numită centromer. Unii cromozomi pot prezenta și constricții secundare la nivelul cărora se organizează nucleolul la sfîrșitul diviziunii, ca și formațiuni heterocromatice, la un capăt, numite sateliți (fig. 17, *A*). Cea mai constantă morfologie a cromozomilor se întîlnește în metafază, cînd aceștia ating cel mai înalt grad de contractare-condensare.

În interiorul cromatidei se află două filamente spirale numite cromoneme răsucite reciproc helicoidal și prezentînd din loc în loc îngroșări ca niște mărgele numite cromomere (fig. 17, *B*). Date fiind poziția fixă și numărul constant al cromomerelor la o specie dată ele au fost considerate a fi locul (loci) genelor.

După poziția centromerului (fig. 18), cromozomul poate fi :

— metacentric (centromerul este la mijlocul cromozomului, rezultînd două brațe egale) ;
— submetacentric (centromerul este deplasat față de centru, rezultînd două brațe inegale) ;

— acrocentric (centromerul este deplasat spre un capăt al cromozomului, rezultînd două brațe cromozomale foarte inegale — unul foarte lung, iar altul foarte scurt, izodiametric) ;

— telocentric (centromerul este plasat pe capătul cromozomului, acesta avînd un singur braț).

Materiale necesare : preparate citologice cu cromozomi de *Allium* și *Mesocricetus* sau oricare altă plantă sau animal, microscop binocular cu obiectiv de imersie (x 90), ulei de imersie, micrometru ocular și micrometru obiectiv, cameră clară, foarfece, pastă de lipit, riglă de măsurat.

Mod de lucru. — Se vizualizează lamele microscopice cu preparate, la obiectiv 40. Se aleg cele mai bune metafaze (fără cromozomi suprapuși, dar cu cromatide bine îndepărtate, în urma acțiunii colchicinei). Se vizualizează la obiectiv de imersie.

— Se numără cromozomii, se desenează la camera clară cromozomii din placa metafazică aleasă.

— Se măsoară cromozomii cu ajutorul micrometrului ocular după o prealabilă stabilire a echivalenței între scala micrometrului ocular și a micrometrului obiectiv (de exemplu 10 gradații din micrometrul ocular intră în 8 gradații ale micrometrului obiectiv × 0,8 mμ). Dacă nu dispunem de micrometru ocular și obiectiv cromozomii se măsoară pe desenul realizat la camera clară cu ajutorul riglei de măsurat, asemenea operație servindu-ne numai pentru împerecherea cromozomilor, nu însă și pentru aprecierea dimensiunii cromozomilor.

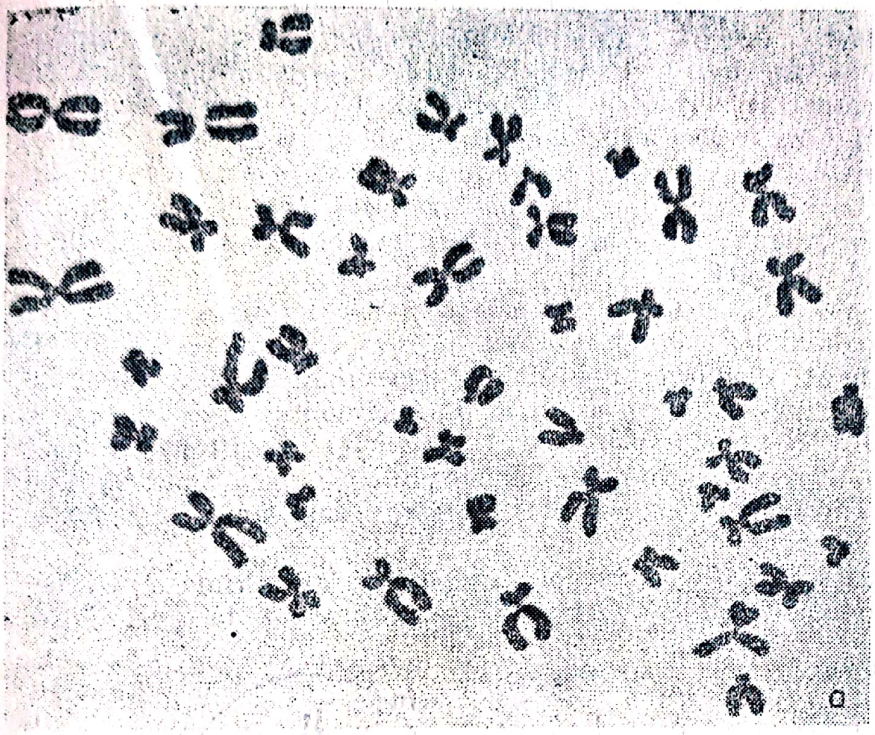
— După desenarea la camera clară și măsurarea fiecărui cromozom se stabilește tipul morfologic pentru fiecare cromozom și se scrie lîngă el, folosind simbolurile : m = metacentric ; sm = submetacentric ; t = telocentric ; ac = acrocentric ; st = subtelocentric.

— Se detașează fiecare cromozom din placa metafazică desenată, folosind foarfecele, decuparea făcîndu-se cu păstrarea unui spațiu de cîțiva milimetri de jur împrejurul cromozomului.

— Se împerechează cromozomii, mai întîi, considerînd lungimea totală a lor și poziția centromerului și, mai apoi, considerînd raportul dintre brațe pentru a stabili poziția precisă a centromerului.

— Se lipesc cromozomii în perechi după dimensiune și morfologie, alcătuindu-se astfel cariotipul. Studiul cariotipic al speciilor ne ajută să evidențiem înrudirea sau neînrudirea dintre ele, precum și modificările care au loc la nivelul materialului genetic sub influența diferiților factori nocivi. De asemenea, ne ajută să elucidăm căile pe care a mers evoluția speciei considerate. Studiul cariotipului uman (fig. 19) ne ajută la stabilirea cu certitudine a naturii unor maladii ereditare care au la bază modificări în numărul și structura cromozomilor (mongoloidismul — un cromozom suplimentar în perechea 21 = trisomia 21 ; leucemia — o translocație cu un schimb nereciproc de brațe cromozomale între cromozomul 9 și 22 ; sindroame cu defecte fizice și psihice remarcabile : XXX, superfemelă, datorită trisomiei cromozomilor de sex, la femeie ; XXY, sindrom Klinefelter, la bărbați ; XO — sindrom Turner, la femeie lipsește un cromozom de sex = monosomie).

Scanned with OKEN Scanner



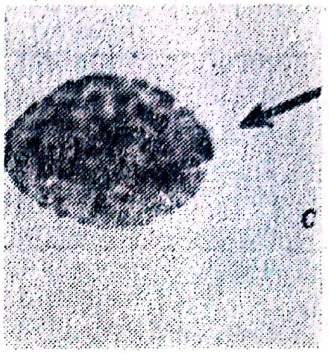
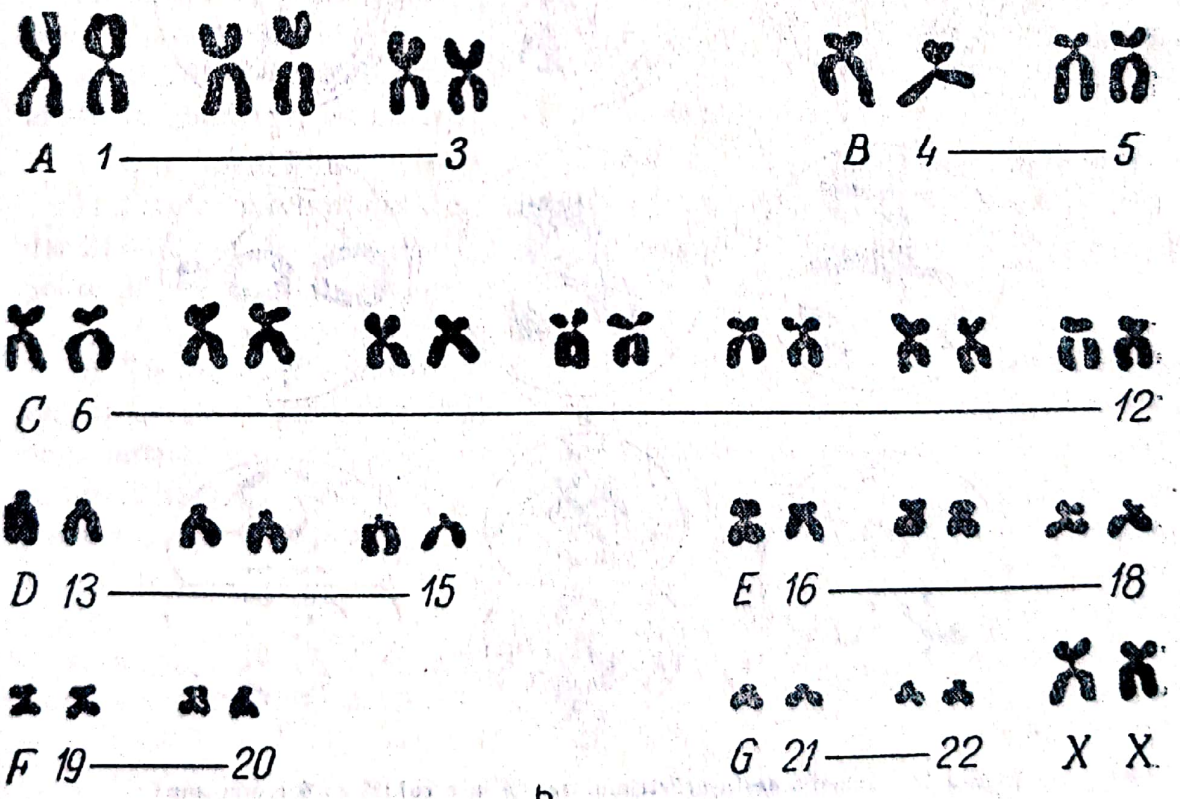


Figura 19. Cromozomi metafiziei umani în leucocite (*a*), cariotipul uman femel (*b*) şi cromatina sexuală (*c*) evidenţiată în celulele din mucoasa bucală la femeie; *A*—*G*—grupe de cromozomi; 1—22—perechi de cromozomi; *XX*—cromozomi de sex.



b

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.4. Studiul cromozomilor în meioză

Meioza sau diviziunea reducțională este diviziunea în urma căreia rezultă elementele reproducătoare — gameții : oosfera — gametul femel și nucleul spermatic — gametul mascul la plante, respectiv, ovulul și spermatozoidul la animale. Meioza se întîlnește doar la organismele care se reproduc pe cale sexuată. Pornindu-se de la o celulă somatică cu o garnitură dublă de cromozomi (2n-diploidă) în urma meiozei iau naștere celule (gameți) cu număr de cromozomi redus la jumătate (n-haploid), din care cauză meioza se mai numește diviziune reducțională.

În meioză se desfășoară două mecanisme genetice de mare importanță prin care se realizează recombinarea genetică (care asigură o mare variabilitate genotipică a organismelor) și anume disjuncția independentă a perechilor de cromozomi și schimbul reciproc de gene adică de fragmente (crossing-over) între cromozomii omologi (cromozomi ce poartă gene care condiționează aceleași caractere, avînd aceeași morfologie), cromozomi care se împerechează în profaza primei diviziuni meiotice, formînd bivalenți sau gemeni cromozomali.

Diviziunea meiotică se desfășoară în două etape (fig. 20). Prima diviziune meiotică se numește heterotipică (reducțională) (se pornește de la o celulă 2n

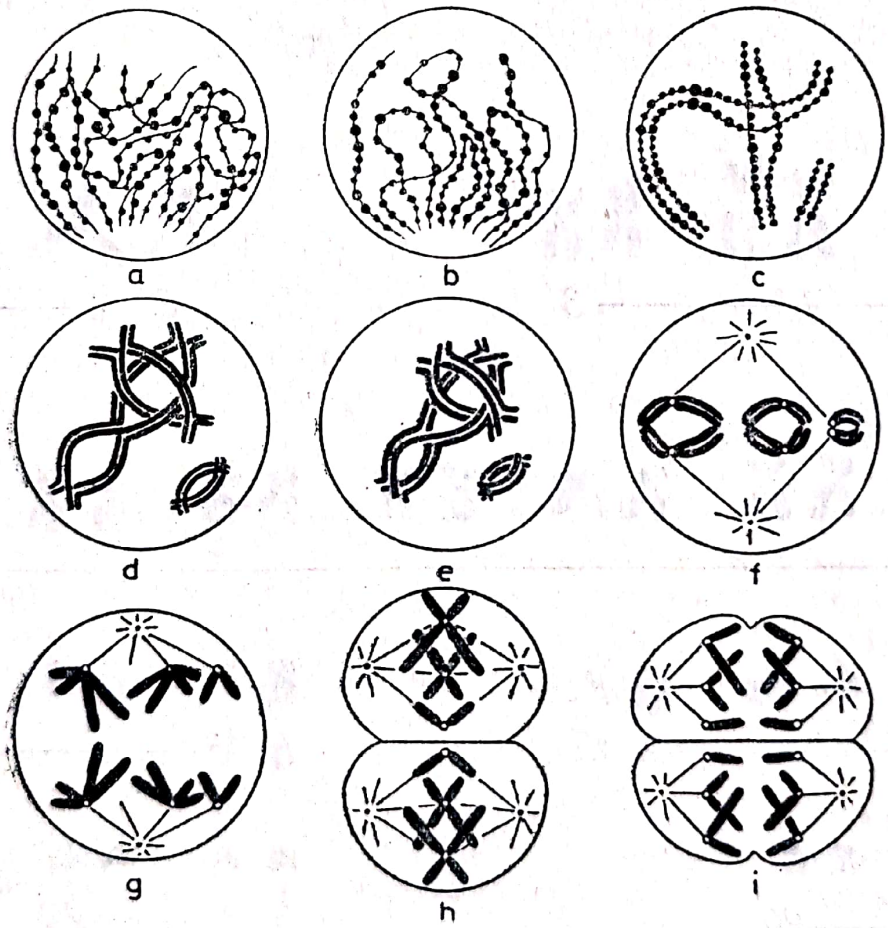


Figura 20. Schema desfășurării meiozei de la o celulă cu 6 cromozomi :
a — leptoten ; *b* — zigoten ; *c* — pachiten cu trei bivalenți ; *d* — diploten cu trei tetrade cromatidiale ; *e* — diachineză ; *f* — metafază I ; *g* — anafaza I ; *h* — metafaza II ; *i* — anafaza II.

Scanned with OKEN Scanner

și se ajunge la două celule n). A doua diviziune meiotică se numește homotipică (de maturație); fiecare din cele două celule „n" rezultate din prima diviziune meiotică se mai divide încă o dată după tipul unei mitoze obișnuite. Rezultă în final patru celule haploide. În ovogeneza animalelor rezultă doar o singură celulă reproducătoare funcțională — ovulul, celelalte 3 se resorb. În spermatogeneza animală toate celulele haploide rezultate în urma meiozei evoluează în spermatozoizi viabili. În microsporogeneza plantelor, toate cele patru celule reprezintă patru grăuncioare de polen (fig. 21). La germinarea polenului nucleul haploid se divide mitotic și dă un nucleu vegetativ care se resoarbe și un nucleu generativ, care se mai divide odată mitotic și va da doi nuclei spermatici.

În megasporogeneza plantelor doar una din cele patru celule este funcțională. Ea se numește celulă-mamă a sacului embrionar. Prin trei diviziuni succesive va da naștere la 8 nuclei din care unul este nucleul oosferei (gametul femel), doi devin nucleii sinergidelor, trei — nucleii antipodelor, iar doi se unesc dînd nucleul secundar al sacului embrionar care va fi diploid. În procesul dublei fecundații, la plantele superioare un nucleu spermatic (n) se unește cu nucleul oosferei (n) și va rezulta oul = zigotul diploid (2n), refăcîndu-se starea normală diploidă a organismului. Al doilea nucleu spermatic (n) se unește cu nucleul secundar al sacului embrionar (2n) și rezultă endospermul triploid (3n). În procesul fecundației la animale, spermatozoidul fecundează ovulul dînd oul = zigotul diploid.

■ **Studiul cromozomilor în meioză la plante**

Materiale necesare : lame și lamele microscopice, ac spatulat, pensă iris, lampă spirt, soluție carmin-acetică, alcool etilic absolut, acid acetic glacial, alcool de 70°. Pentru studiul meiozei se folosesc spice de cereale (grîu, secară) aflate în „burduf", avînd lungimea de 4—6 cm.

Mod de lucru. Pentru efectuarea preparatelor se impun următoarele etape :

1) *Fixarea materialului* : cu alcool acetic 3 : 1 în care este ținut la frigider 24—72 ore. Se trece apoi în alcool absolut și în alcool de 70° în care se poate păstra timp îndelungat, la frigider.

2) *Colorarea* : cu carmin acetic.

3) *Efectuarea preparatelor.* Pe o lamă microscopică, într-o picătură de carmin acetic se pune o stamină. Cu ajutorul pensei se separă stamina în cele două antere, care apoi se secționează transversal cu ajutorul acului spatulat. Se apasă apoi pe jumătățile de antere secționate pentru a scoate în afară celulele-mame ale grăunciorilor de polen. Se îndepărtează sacii polinici. Se aplică lamela peste material. Se încălzește ușor la flacăra lămpii de spirt. Se aplică peste lamelă o bucată de hîrtie de filtru. Se îndepărtează excesul de carmin. Se apasă ușor cu degetul mare peste hîrtie și lamelă pentru a se obține o etalare bună a celulelor. Și aici se pot face preparate permanente, după procedeul descris la mitoză. Și în cazul meiozei se poate aplica metoda Feulgen, fixîndu-se, hidrolizîndu-se și colorîndu-se stamine smulse din spiculețe. Apoi se procedează ca mai sus, putîndu-se înlocui picătura de carmin cu o picătură de apă acetică (acid acetic 45%).

Scanned with OKEN Scanner

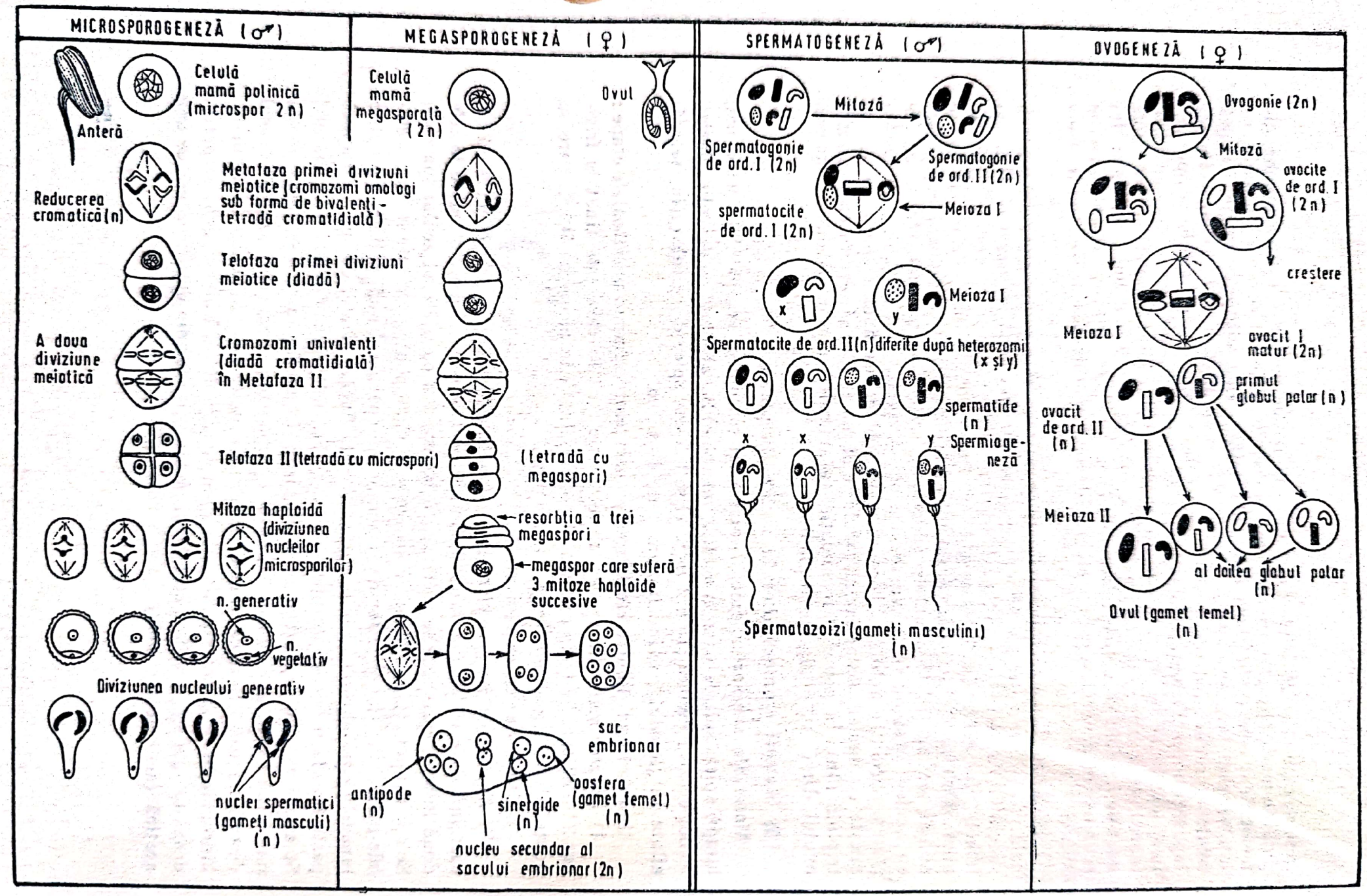


Figura 21. **Meioza la plante și animale** (comparație).

Scanned with OKEN Scanner

■ **Studiul cromozomilor în meioză la animale**

Materiale necesare : se folosește același animal sacrificat pentru studiul cromozomilor în mitoză, soluție hipotonă de citrat de sodiu, cristalizor de sticlă, termostat reglat la 37°C, foarfece, tifon, pîlnie de sticlă, eprubete de centrifugă, centrifugă cu 1 000 rot/min.

Mod de lucru. Se face o disecție pe animalul sacrificat la nivelul abdomenului. Se scot și se detașează testiculele. Se pun într-un cristalizor în soluție hipotonă de citrat de sodiu, la 37°C. Se mărunțesc bine cu ajutorul foarfecelor pînă ce se obține o suspensie celulară omogenă. Se filtrează prin tifon într-o eprubetă de centrifugă. Se procedează apoi ca în cazul mitozei.

Diferite faze ale diviziunii meiotice sînt redate în figura 20 și în figura 22.

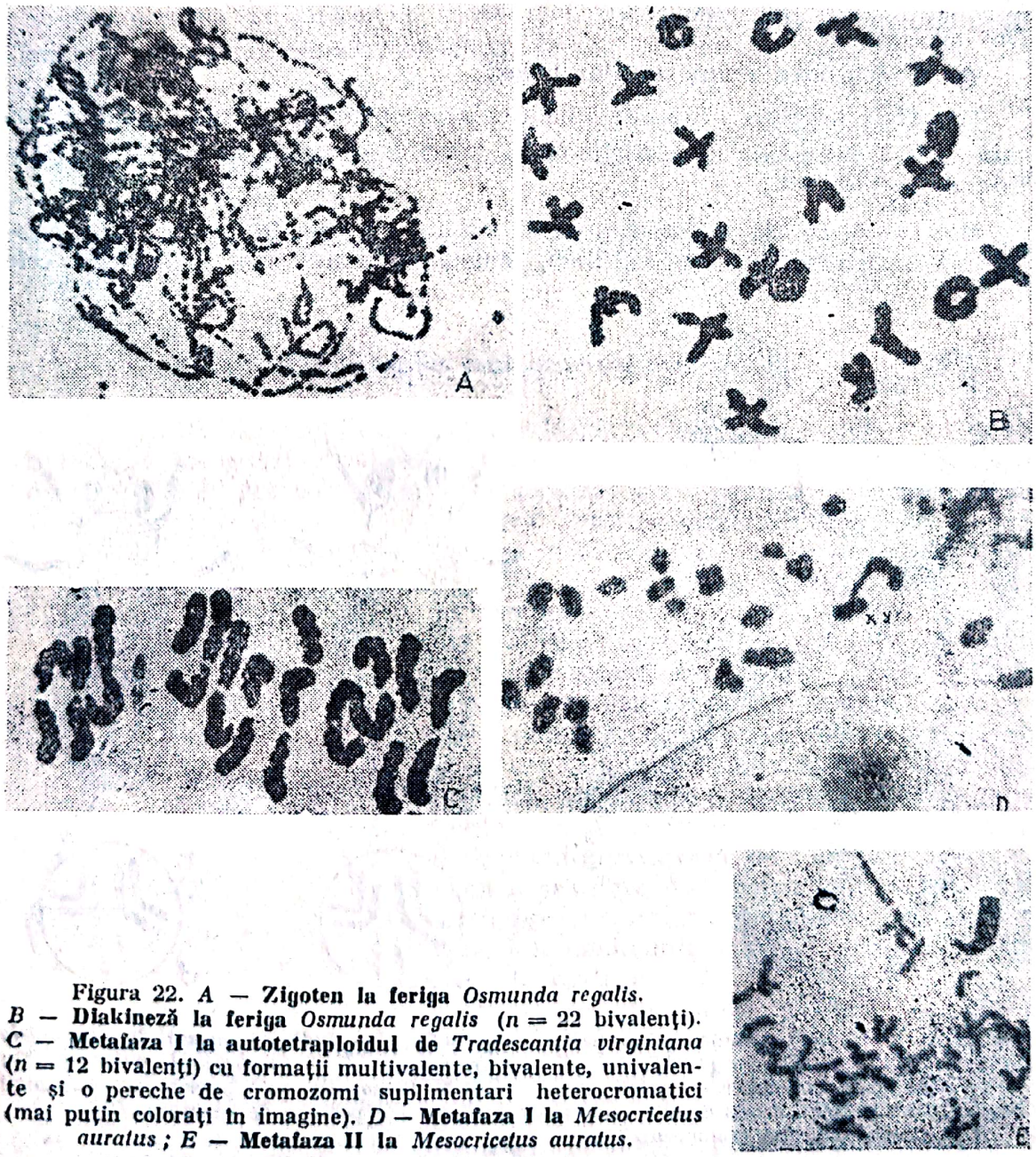


Figura 22. *A* — **Zigoten la feriga** *Osmunda regalis*. *B* — **Diakineză la feriga** *Osmunda regalis* ($n = 22$ bivalenți). *C* — **Metafaza I la autotetraploidul de** *Tradescantia virginiana* ($n = 12$ bivalenți) cu formații multivalente, bivalente, univalente și o pereche de cromozomi suplimentari heterocromatici (mai puțin colorați în imagine). *D* — **Metafaza I la** *Mesocricetus auratus* ; *E* — **Metafaza II la** *Mesocricetus auratus*.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.5. Tipuri particulare de cromozomi

În afara tipurilor obişnuite de cromozomi au mai fost descrise şi unele tipuri particulare. Astfel în ovocitele de triton, deci în meioză, au fost descrişi cromozomii plumoşi sau în perie de sticlă de lampă care prezintă o axă centrală din care pornesc bucle laterale. De asemenea, în glandele salivare de la larvele musculiţei de oţet (*Drosophila melanogaster*) au fost descrişi cromozomii uriaşi sau politeni (fig. 23). În celulele obişnuite ale corpului drosofilei se află cîte 8 cromozomi care formează patru perechi (I—IV) ; 3 perechi de autozomi şi o pereche de heterozomi (cromozomii sexului) (XX la femelă, XY la mascul) (fig. 24).

■ **Evidenţierea cromozomilor uriaşi**

Materiale necesare : lame şi lamele microscopice, ac spatulat, soluţie carmin-acetică, lampă de spirt, hîrtie filtru, larve de drosofilă în stadiul III (înainte de împupare).

Mod de lucru. Se folosesc larve de stadiul III, de *Drosophila* sau *Chironomide* se găsesc în mîlul bălţilor), femele, care sînt mai mari decît cele

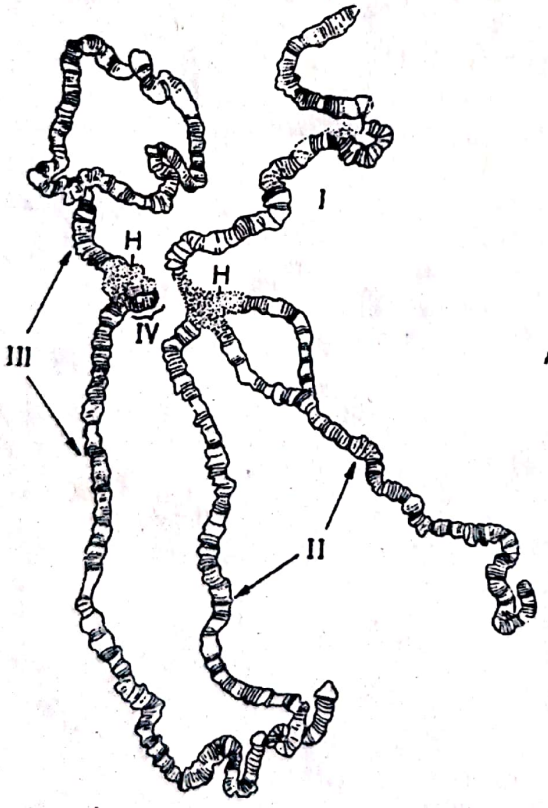


Figura 23. **Morfologia cromozomului uriaş la *Drosophila melanogaster*** (I, II, III, IV — corespondenţa perechilor de cromozomi normali cu braţele cromozomului uriaş ; *H* — heterocromatină cromocentrică).

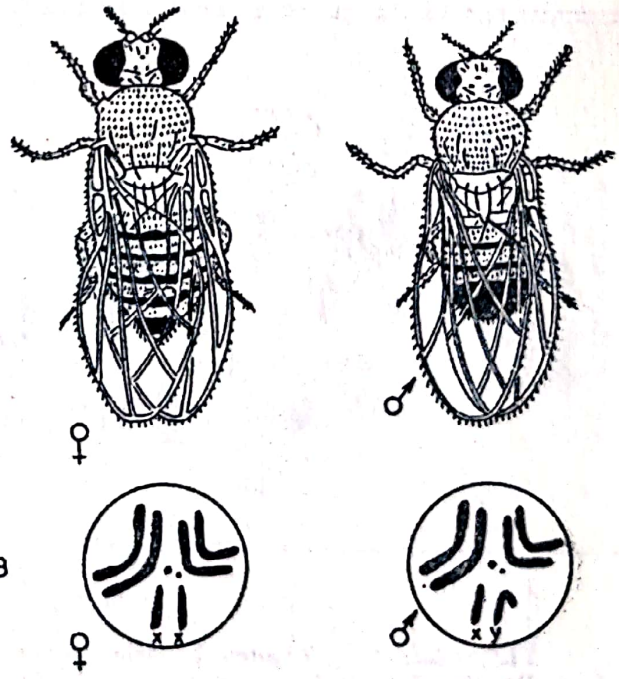


Figura 24. *A* — **Indivizi normali de *Drosophila melanogaster*.** *B* — **Cromozomi obişnuiţi (2n = 8) la *Drosophila*, cu 3 perechi de autozomi şi o pereche de heterozomi.**

Scanned with OKEN Scanner

mascule. Glandele salivare sînt plasate în partea anterioară a corpului larvei legate de armătura bucală, care apare ca un punct negru prin transparența tegumentului. Cu ajutorul acului spatulat se face o incizie înapoia acestui punct negru. Printr-o mișcare de smulgere se detașează această parte anterioară a corpului care se pune într-o picătură de carmin-acetic în care stă circa 3 min. Se aplică lamela. Se aplică hîrtia de filtru. Se presează puternic cu degetul mare pentru etalare. Se înlătură excesul de carmin. Se examinează la microscop. Cele mai frumoase imagini se obțin la cromozomii uriași de la *Chironomus* (fig. 25). Se recomandă această insectă întrucît larvele sale pot fi foarte ușor procurate. La nivelul cromozomului uriaș de *Chironomus* se pot evidenția foarte ușor și pufele (dezlînări locale ale cromozomului la nivelul cărora se sintetizează ARN-ul ribozomal).

Figura 25. Cele patru brațe cromozomale libere ale cromozomului uriaș de *Chironomus* cu modelul de benzi evident :

NO — nucleol ; *Br* — inele Balbiani (pufe) ; în dreapta sus complementul cromozomal normal.

1.3.5.6. Tezele teoriei cromozomale a eredității

Pe baza studiilor efectuate la *Drosophila melanogaster*, a fost elaborată, la începutul secolului nostru (1919) teoria cromozomală a eredității de către *Th. H. Morgan* și școala sa. *Drosophila* (v. fig. 24, A) prezintă multe avantaje pentru cercetările de genetică : se crește ușor în laborator pe medii de cultură simple (fig. 26) ; se găsește și în natură pe medii fermentative (mere, pere, struguri, prune în fermentație) ; se înmulțește foarte repede (durata unei generații este de circa 12 zile la 20°C) ; din această cauză se poate urmări, într-o perioadă scurtă de timp, transmiterea caracterelor ereditare de-a lungul mai multor generații ; este prolifică, putîndu-se urmări transmiterea caracterelor ereditare la un număr mare de descendenți ; are o garnitură de 4 perechi de cromozomi bine diferențiați morfologic (v. fig. 24, B), putîndu-se urmări modificările ce apar în structura lor, modificări ce pot fi corelate cu apariția de mutații.

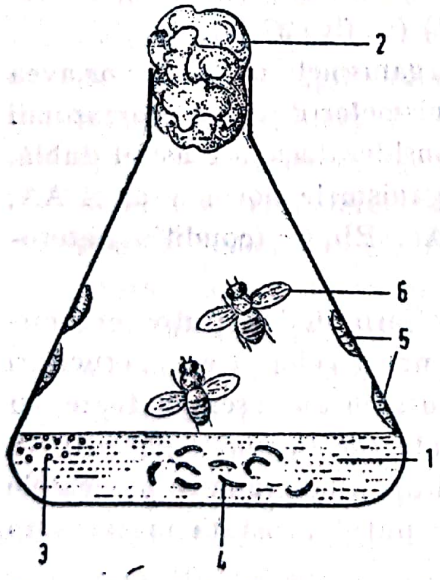


Figura 26. Cultură de drosofilă în laborator :

1 — mediu fermentativ ; *2* — dop de vată ; *3* — ouă ; *4* — larve care se deplasează în mediu ; *5* — pupe ; *6* — adulți.

La *Drosophila* au fost descrise peste 400 de mutante (fig. 27 și pl. VII. A). Pe baza unei mutante de drosofilă, fără ochi (eyeless) s-a putut stabili că factorii ereditari mendelieni (genele) sînt plasați pe cromozomi. La această

Scanned with OKEN Scanner

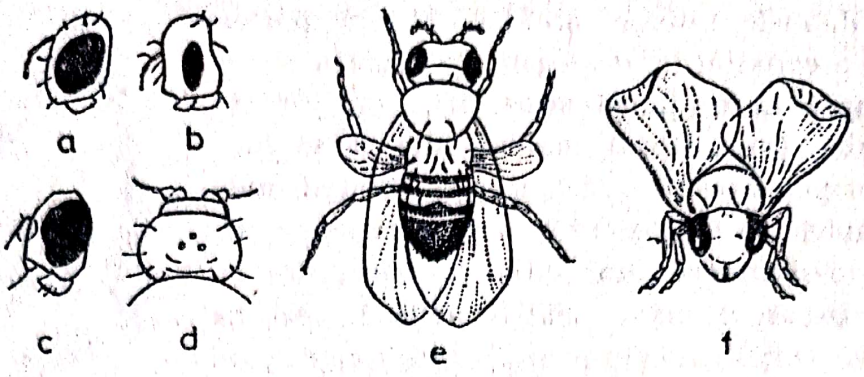


Figura 27. **Unele mutante la drosofilă :**
a — ochi normal ; *b* — ochi barat ; *c* — ochi reniform ; *d* — fără ochi (eyeless) ; *e* — mutantă tetrapteră ; *f* — mutantă cu aripi curbate (curly).

mutantă, în loc de 8 cromozomi, existau doar 7. Lipsa unui cromozom s-a corelat cu lipsa unui organ (ochiul) și deducția logică a fost că pe acest cromozom absent au fost localizate genele ce condiționează organogeneza ochiului.

Din studiul drosofilei, ca și pe baza altor date, s-au putut elabora următoarele teze ale teoriei cromozomale a eredității :

1) *Teza succesiunii liniare a genelor pe cromozomi și a localizării lor în locuri precise numite locus* (plural loci). Această teză a fost elaborată, studiindu-se rezultatul încrucișărilor (analiză genetică) între trei mutante care prezentau caractere diferite față de tipul normal (sălbatic). Mutantele sînt organisme care poartă gene ce au suferit mutații. De exemplu, dacă ne referim la culoarea ochilor, tipul normal de drosofilă (tipul sălbatic) are ochi de culoare roșie. Există mutante cu ochi de culoare mai deschisă, ajungînd pînă la ochi de culoare albă. De asemenea, tipul normal are două aripi drepte (drosofila este un dipter ca și musca). Există mutante cu aripi îndoite (curly) sau cu aripi reduse, vestigiale, dar și mutante cu patru aripi (tetrapteră) (v. fig. 27, e).

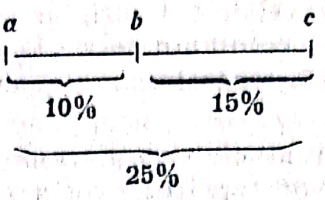
Dacă vom nota genele mutante cu a, b și c, organismele mutante vor avea structura genotipică aa, bb și cc (la nivelul organismelor diploide cromozomii sînt sub formă de pereche de omologi și gena considerată apare astfel dublă, fiind plasată pe ambii cromozomi omologi). Organismele normale ar fi AA, BB și CC (condiție homozigotă dominantă) sau Aa, Bb, Cc (condiție heterozigotă).

Analiza genetică (studiul rezultatelor încrucișării dialele între organismele normale, dar heterozigote) a arătat că în urma celor trei încrucișări (Aa × Bb ; Aa × Cc ; Bb × Cc) rezultă atît organisme asemănătoare cu părinții, cît și organisme cu caractere recombinate (de la ambii părinți), în urma crossing-overului (Aa ; aB ; Ac ; aC ; Bc ; bC). Analizîndu-se procentele de recombinare (crossing-over) după fenotip, s-a putut constata următoarea situație :

— între gena a și b procentul de recombinare este de 10% ;
— între gena b și c procentul de recombinare este de 15% ;
— între gena a și c procentul de recombinare este de 25%.

Scanned with OKEN Scanner

Se poate uşor înţelege că procentul de recombinare între gena a şi c reprezintă suma procentelor de recombinare între a şi b, respectiv b şi c. O asemenea situaţie nu ar putea rezulta decît în condiţiile în care genele sînt aşezate liniar pe cromozom, după următoarea reprezentare :



2) *Teza înlănţuirii genelor* (linkage), după care genele plasate pe acelaşi cromozom manifestă tendinţa de a se transmite în bloc la descendenţi.

În urma încrucişării între un soi de *Lathyrus odoratus* (leguminoasă) cu flori purpurii şi polen alungit şi un soi cu flori roşii şi polen rotund, se constată că descendenţa prezintă în proporţie foarte mare plante cu flori purpurii şi polen alungit, pe de o parte, precum şi plante cu flori roşii şi polen rotund, pe de altă parte. Categoriile intermediare (plante cu flori purpurii şi polen rotund şi plante cu flori roşii şi polen alungit) sînt mult mai puţin reprezentate printre descendenţi.

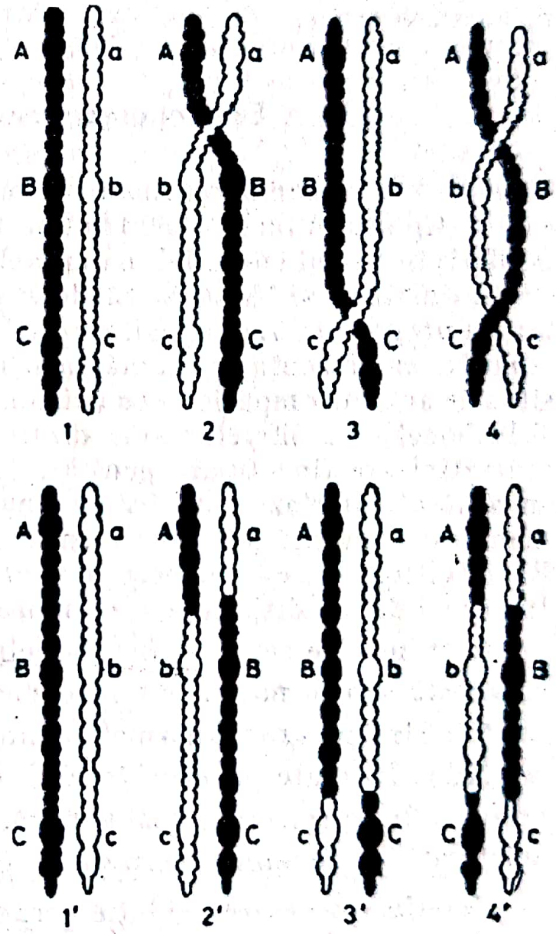


Figura 28. Schema schimbului reciproc *(crossing-overului)* :

1 — doi cromozomi omologi, unul de la mamă (negru), celălalt de la tată (alb) cu dispunerea liniară a genelor alele (*Aa*, *Bb* şi *Cc*) în acelaşi locus pe cei doi cromozomi omologi ; *2*, *3*, *4* — realizarea unor chiasme între cromozomii omologi, la nivelul unui punct (*2* şi *3*) sau două puncte (*4*). Cînd nu are loc crossing-overul, ordinea genelor rămîne neschimbată (*1'*) la cromozomii ce vor fi repartizaţi în nuclei diferiţi ai gameţilor în meioză. În cazul în care are loc crossing-overul, ordinea genelor se modifică (*2'*, *3'*, *4'*), realizîndu-se recombinarea genetică.

Concluzie. Gena care determină caracterul de floare purpurie manifestă tendinţa de a se transmite legată de gena care determină caracterul de polen alungit (transmitere înlănţuită, în bloc). Aceeaşi tendinţă o manifestă genele care determină caracterele de floare roşie şi polen rotund. Numai în puţine cazuri aceste gene nu se transmit înlănţuit, datorită fenomenului crossing-overului, care reprezintă cea de-a treia teză a teoriei cromozomale a eredităţii.

3) *Teza crossing-overului* (a schimbului reciproc de fragmente de cromozomi, respectiv de gene). Acest fenomen, opus lincajului (înlănţuirii), face ca în meioză, atunci cînd cromozomii omologi se conjugă şi alcătuiesc perechi

de cromozomi (bivalenți), să se realizeze între ei un schimb reciproc de fragmente, respectiv de gene (în urma ruperii și reunirii acestor cromozomi) (fig. 28).

După realizarea schimbului reciproc, fiecare cromozom are gene atît de la un părinte cît și de la celălalt (dintre cei doi cromozomi din fiecare bivalent unul este de origine maternă, celălalt de origine paternă). Din această cauză apar la descendenți caractere recombinate de la ambii părinți. Se realizează astfel diversificarea genotipică, recombinarea genetică și se mărește variabilitatea organismelor.

Modificările care apar la nivelul cromozomilor, corelate cu apariția de caractere mutante, pot fi ușor remarcate prin studiul cromozomilor uriași. Astfel, din studiul mutantei Bar (ochi barat, care se deosebește de ochiul normal rotund) și ultrabar, la drosofila, s-a constatat că aceste caractere mutante se datoresc modificărilor în morfologia și numărul benzilor de pe brațele cromozomului uriaș.

1.3.5.7. Evidențierea cromatinei sexuale

La mamifere, inclusiv omul, determinismul cromozomal al sexului este de tip drosofilă: XX pentru femelă, XY pentru mascul. Dar cromozomul Y a suferit în cursul evoluției mamiferelor o continuă degradare genetică, heterocromatinizîndu-se. El poartă doar gena sau genele care determină transformarea progonadei în testicul. Rezultă că femela mamiferelor, avînd doi cromozomi X, ar prezenta un număr mai mare de gene decît sexul mascul. Această situație ar fi incompatibilă cu existența normală a speciilor. Din această cauză și la femela mamiferelor unul dintre cei doi cromozomi X a suferit o heterocromatinizare (inactivare genică). Acest cromozom X, heterocromatic apare în nucleul interfazic sub forma unui corpuscul oval cu triunghiular lipit de membrana internă a nucleului și este numit cromatină sexuală sau corpuscul Barr (v. fig. 19, c). Femela mamiferelor este Barr +, iar masculul Barr −. În cazuri de nondisjuncție a cromozomilor de sex apar fie femele cu 2 sau mai multe cromatine sexuale, fie masculi Barr +, cazuri anormale, care la om se manifestă sub forma unor sindroame grave (Klinefelter — XXY, superfemelă XXX). Sînt și cazuri anormale, cînd femela este Barr negativă (sindrom Turner-XO). În toate cazurile totuși, regula este că dintre toți cromozomii X, prezenți în garnitura cromozomală, doar unul este funcțional, ceilalți fiind inactivați și devenind corpusculi Barr.

Materiale necesare : soluție carmin-acetică, ac spatulat păstrat în condiții aseptice, lame și lamele microscopice, hîrtie filtru.

Mod de lucru. Se colectează mucoasa bucală prin raclarea peretelui lateral al cavității bucale cu un ac spatulat steril sau cu o lamă microscopică sterilă (imersionată în alcool de 70°), îndepărtînd primul strat de celule epiteliale (care sînt descuamate, moarte) și prelevînd un strat de celule vii. Se pune materialul pe o lamă microscopică împreună cu o picătură de carmin-acetic. Se aplică lamela. Se lasă 2—3 min. Se îndepărtează excesul de carmin, se apasă puternic peste lamelă, cu degetul mare, pentru etalarea celulelor. Nucleul apare colorat în roșu. În cazurile normale, la femeie se identifică în interiorul

Scanned with OKEN Scanner

nucleului un corpuscul mic, mai puternic colorat decît restul nucleului, care este corpusculul Barr. La bărbaţi nu se identifică cromatina sexuală, în cazurile normale.

1.3.5.8. Studiul mutaţiilor

Mutaţiile stau la baza procesului evolutiv. Ele sînt prelucrate de selecţia naturală, dovedindu-se avantajoase sau nu în lupta pentru existenţă.

Mutaţia reprezintă orice modificare în structura şi funcţia materialului genetic, care nu este urmare a fenomenului de recombinare a genelor şi care determină o modificare a fenotipului. Mutantul — purtătorul unei mutaţii — se deosebeşte de tipul normal (sălbatic). Mutaţiile pot fi spontane sau induse. După mărimea substratului genetic afectat, mutaţiile pot fi : punctiforme (modifică un singur necleotid în molecula de ADN) ; genice (afectează funcţiile unei gene — cea mai mică subunuitate genică este perechea de nucleotide) ; structural-cromozomale (modifică ordinea liniară a genelor pe cromozomi în urma fragmentării şi rearanjării fragmentelor acestuia) (fig. 29) şi numeric-cromozomale sau genomiale (care afectează numărul de cromozomi, fie ducînd la multiplicarea întregii garnituri de cromozomi, însoţită de o mărire corespunzătoare a cantităţii de ADN — (poliploidie), fie afectînd doar unele perechi de cromozomi — aneuploidie). Unele mutaţii structural-cromozomale şi cele genomiale pot fi studiate microscopic.

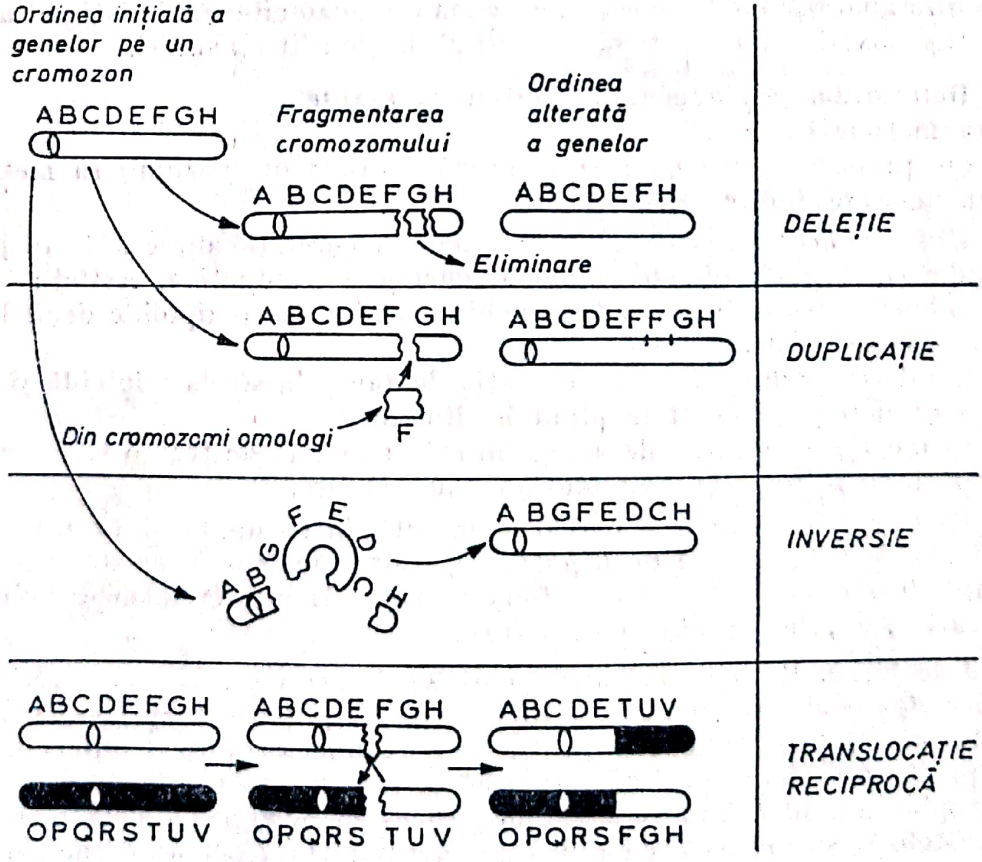


Figura 29. Schema mutaţiilor structural-cromozomale.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.5.9. Studiul acțiunii unor agenți mutageni asupra materialului genetic la plante și animale

Materiale necesare : dotare standard pentru aplicarea metodei Feulgen sau Giemsa, substanțe chimice mutagene (dietilsulfat, etilmetansulfonat etc.), pesticide, raticide, diverși agenți poluanți (SO_2), colchicină în concentrație de pînă la 2%, acționînd statmochinetic și determinînd poliploidizarea.

Atenție ! Trebuie luate toate măsurile de precauție în manipularea acestor substanțe toxice.

Mod de lucru. Se folosesc soluții apoase 0,5—1% de dietilsulfat, procurate de la laboratoarele de chimie sau genetică.

Se administrează animalelor de laborator în hrană sau se tratează radicelele de ceapă sau semințele de secară, grîu, orz etc. cu asemenea soluții, în diluții succesive : 0,001, 0,01, 0,1, 1%, timp de 1—24 ore. După tratarea radicelelor cu substanța mutagenă, acestea se scot din fiolele în care s-a realizat tratamentul și după o atentă spălare cu apă de robinet și apă distilată sînt folosite în efectuarea preparatelor citologice, în care se evidențiază modificările în structura materialului genetic și în comportamentul cromozomilor în mitoză. Cele mai comune sînt : fragmentarea cromozomilor, picnoza, apariția de cromozomi inelari, punțile cromatice care leagă cromozomii în anafază sau nucleii-fii în telofază (fig. 30), ca și dispunerea radiară a cromozomilor în metafază și apariția de cromozomi retardatari — întîrziați (care nu migrează spre poli în anafază sau telofază). Pe seama cromozomilor întîrziați pot apărea la sfîrșitul diviziunii micronuclei pe lîngă nucleii-fii obișnuiți.

Determinarea gradului de ploidie la plante

Prin metode directe.

Se fac preparate citologice și se numără direct cromozomii în metafază.

Prin metode indirecte.

a. *Macroscopice.* S-a constatat că există o corelație directă între gradul de ploidie și anumite caractere morfologice sau productive. Astfel :

— culoarea frunzelor este mai închisă la plantele poliploide decît la cele diploide corespunzătoare ;

— greutatea rădăcinii și concentrația de zahăr la sfecla triploidă și tetraploidă sînt mai mari decît la plantele diploide ;

— formele autotetraploide au un număr mai mic de fructe și de semințe per plantă decît formele diploide corespunzătoare.

b. *Microscopice.* Există o corelație directă între numărul de cloroplaste și numărul de stomate, pe de o parte, și gradul de ploidie pe de altă parte. Numărul de stomate pe unitatea foliară este mai mic la formele poliploide comparativ cu cele diploide corespunzătoare.

Mod de lucru. Cu ajutorul unei pense se desprinde epiderma inferioară a frunzelor de sfeclă de zahăr diploidă, triploidă și tetraploidă (procurate de la I.A.S.), fixate în alcool-acetic 3 : 1. Pe o lamă microscopică se pune epiderma într-o picătură de soluție de iod în iodură de potasiu, care colorează amidonul din cloroplaste, evidențiindu-le mai bine pe acestea. Se aplică lamela. Se numără cloroplastele și se măsoară cu ajutorul micrometrului ocular diametrul lung al stomatelor la 50—100 de stomate.

Scanned with OKEN Scanner

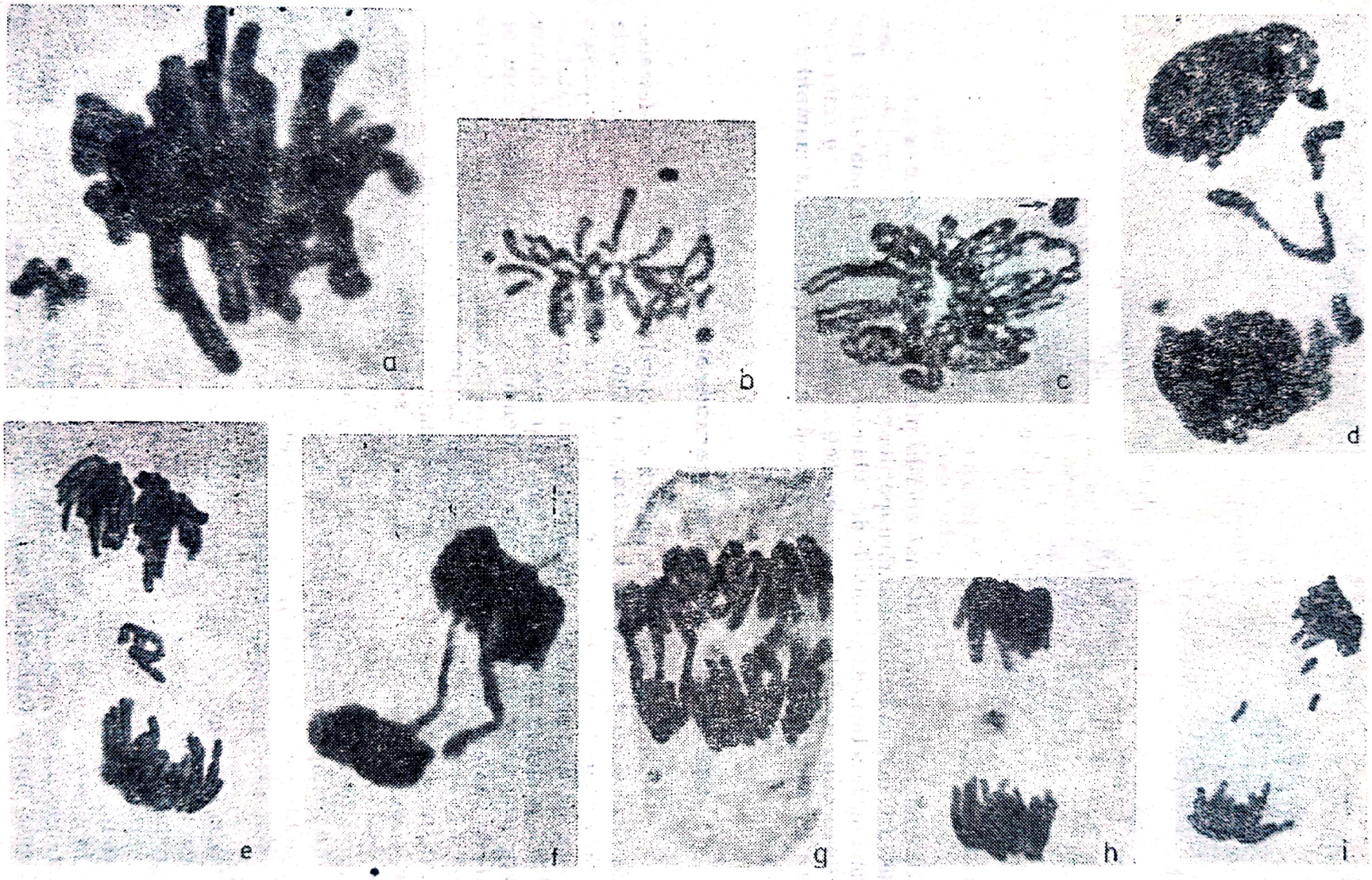
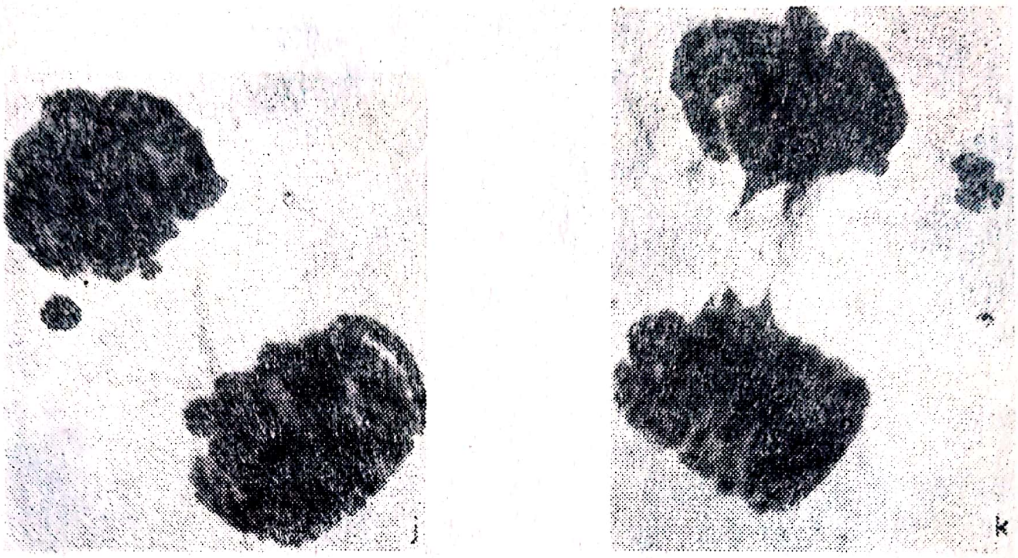


Figura 30. Aberații cromozomale induse la ceapă sub influența raticidului fosfură de zinc :

a—c — metafaze cu cromozomi *(a)* sau fragmente cromozomale *(b* și *c)* neincluse în placa ecuatorială ; *d—e* — telofaze cu cromozomi întîrziați și translocați ; *f* — telofază cu punți cromatice ; *g* — anafază cu multiple punți cromatice ; *h* — telofază cu fragmente acentrice; *i* — telofază cu cromozomi întîrziați ; *j* — telofază cu micronucleu ; *k* — telofază cu punți și micronucleu.

Scanned with OKEN Scanner



Grăunciorii de polen sînt mai mici la plantele diploide decît la cele poliploide, dar mai uniformi ; numărul porilor germinativi la grăunciorul de polen este mai mare la formele poliploide decît la cele diploide. Polenul poate fi studiat direct sau după o colorare cu carmin-acetic. Evidenţierea porilor germinativi se face tratînd polenul cu o soluţie apoasă de H_2SO_4 (atenţie la manipularea H_2SO_4 !).

1.3.6. Studiul transmiterii caracterelor ereditare

Particularităţile transmiterii caracterelor ereditare au fost descoperite de către G r e g o r M e n d e l, în anul 1865, cînd a publicat rezultatele cercetării eredităţii cunoscute ulterior ca legile mendeliene. Făcînd încrucişare între un soi de mazăre cu bob neted şi un soi cu bob zbîrcit a constatat că rezultă o primă generaţie (F_1), în care plantele seamănă doar cu unul dintre părinţi, producînd doar boabe netede. Mendel a numit caracterul care se manifestă în F_1 caracter dominant (bob neted în cazul considerat), iar cel care a existat la unul din părinţi ce a luat parte la încrucişare, dar care nu s-a exteriorizat (nu s-a exprimat fenotipic fiind mascat, nu însă eliminat la indivizii din F_1), caracter recesiv. Indivizii din F_1 sînt 100% hibrizi (heterozigoţi). M e n d e l a emis ipoteza după care diferitele caractere ale organismului sînt condiţionate de factori ereditari, care se află în doză dublă în celulele somatice şi în doză simplă în gameţi. Factorii ereditari notaţi cu simboluri — literele alfabetului — sînt dominanţi (notaţi cu litere mari) şi recesivi (notaţi cu litere mici). Experienţa poate fi redată schematic ca în figura 31.

Concluzie. Dacă organismele pot fi pure sau impure din punct de vedere genetic, gameţii sînt legic doar puri genetic, deoarece ei rezultă în urma diviziunii reducţionale (meioza) în care are loc separarea factorilor ereditari în nuclee diferite, respectiv în gameţi diferiţi. Organismelele pure genetic (homozigote) reprezintă o varietate de populaţie în interiorul speciei, în care descendenţii sînt asemănători părinţilor. Cu alte cuvinte, caracterele unor asemenea organisme nu segregă. La organismele heterozigote apare fenomenul segregării.

Scanned with OKEN Scanner

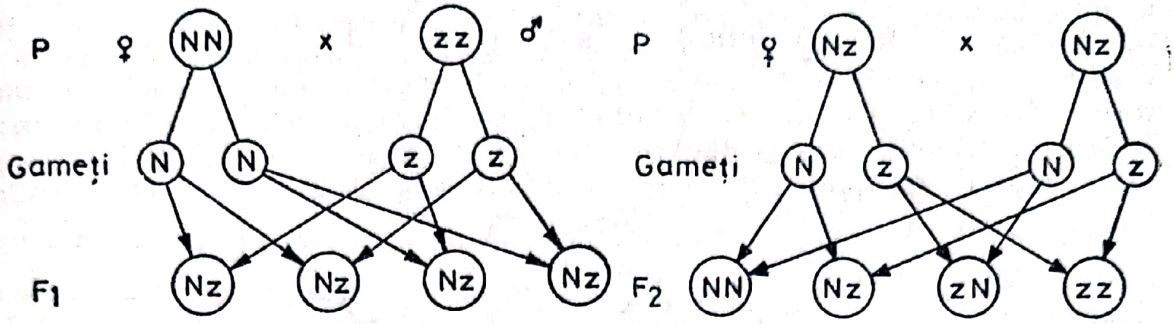


Figura 31. Monohibridarea la mazărea cu bob neted și cu bob zbîrcit; *N* — bob neted; *z* — bob zbîrcit; *NN* — organism homozigot dominant; *zz* — organism homozigot recesiv; *Nz*—organism heterozigot; *P* — părinți (genitori) F_1 — prima generație hibridă; F_2 — a doua generație.

Legea I a lui Mendel se numește *legea purității gameților*. Ulterior, la începutul secolului XX, după redescoperirea legilor mendeliene și dovedirea aplicării lor universale în lumea vie, noțiunea de factor ereditar a fost suprapusă aceleia de genă, mai ales după elaborarea teoriei cromozomale a eredității. Factorii ereditari (genele) care controlează diferitele expresii ale aceluiași caracter (forma bobului) se numesc gene alele și ocupă același locus pe cei doi cromozomi omologi:

NN	Nz	zz
homozigot dominant	heterozigot	homozigot recesiv

M e n d e l a continuat experiența, încrucișînd între ele plante din F_1 (v. fig. 31).

Prin simboluri se indică structura genotipică (natura factorilor ereditari). Analizînd generația a II-a, se constată următoarele:

Fenotipic reapar ambele caractere ale părinților: plante cu bob neted și plante cu bob zbîrcit. Raportul dintre plantele cu caracter dominant și plantele cu caracter recesiv este de 3 : 1. În generația a II-a are loc o segregare (o disjuncție sau o dezbinare) a caracterelor în acest raport constant 3 : 1.

Genotipic apar trei categorii de constituții genetice: homozigot dominantă (NN) — 25%, heterozigotă (Nz) — 50% și homozigot recesivă (zz) — 25%. Dar categoriile genotipice NN și Nz se manifestă fenotipic asemănător, rezultînd raportul de segregare 75% cu caracterul dominant, la 25% recesiv deci, $\frac{3}{4} : \frac{1}{4}$ (simplificat 3 : 1). În categoria de organisme heterozigote (Nz), factorul recesiv nu se poate exterioriza în prezența factorului dominant. Factorul recesiv se manifestă numai cînd este plasat pe ambii cromozomi omologi, deci cînd se află în doză dublă sau în stare homozigotă (zz). Numai la sexul mascul, la mamifere, unde cromozomii de sex X și Y nu sînt omologi (nu poartă aceleași gene) o genă recesivă, plasată pe cromozomul X (sex-lincată), se manifestă chiar în doză simplă — în stare hemizigotă, nefiind desigur în prezența genei dominante. Cînd M e n d e l a făcut o încrucișare între un soi de mazăre cu boabe netede și galbene (caractere dominate) și un alt soi cu boabe zbîrcite și verzi (caractere recesive) a obținut o primă generație hibridă cu plante cu boabe netede și galbene (fig. 32).

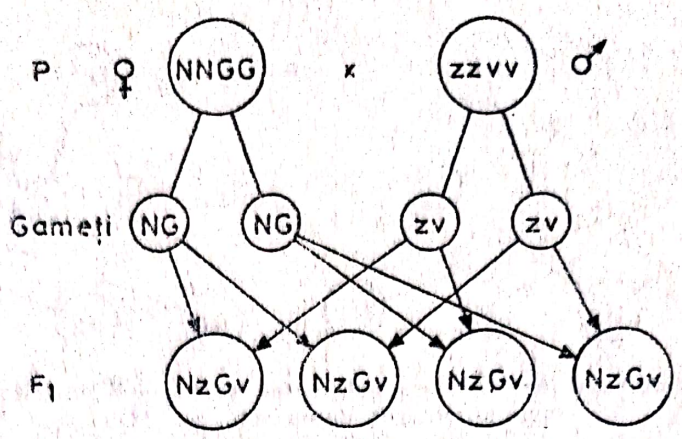


Figura 32. **Dihibridarea la mazăre** (încrucișarea între organisme care se deosebesc prin două perechi de caractere: bob neted și galben (*NN* GG) și zbîrcit și verde (*zzvv*).

Încrucișînd plante heterozigote din F_1 a obținut a doua generație în care au apărut 16 posibilități de combinare între factorii ereditari după raportul 9/16 NG — ambele caractere dominante; 3/16 Nv — un caracter dominant și unul recesiv.

3/16 zG — celălalt caracter dominant;
și celălalt recesiv.

1/16 zv — ambele caractere recesive.

Dăm mai jos schema:

Gameți ♀ \ ♂	NG	Nv	zG	zv
NG	NNGG	NNGv	NzGG	NzGv
Nv	NNGv	NNvv	NzGv	Nzvv
zG	NzGG	NzGv	zzGG	zzGv
zv	NzGv	Nzvv	zzvG	zzvv

Probabilitatea apariției caracterului dominant N sau G este de $\frac{3}{4}$, iar pentru cele recesive z și v este de $\frac{1}{4}$. De aici rezultă pentru NG $\frac{3}{4} \cdot \frac{3}{4} = \frac{9}{16}$; pentru Nv $\frac{3}{4} \cdot \frac{1}{4} = \frac{3}{16}$; pentru zG $\frac{3}{4} \cdot \frac{1}{4} = \frac{3}{16}$ și pentru zv $\frac{1}{4} \cdot \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$.

Scanned with OKEN Scanner

Față de experiența anterioară, în care a considerat o singură pereche de caractere alelomorfe (contrastante : neted-zbîrcit), în cazul de față, cînd a considerat transmiterea a două perechi de caractere alelomorfe — unul referindu-se la formă (neted-zbîrcit), altul la culoare (galben-verde), M e n d e l a constatat că, în afara categoriilor de indivizi care au fost inițial încrucișați (genitorii inițiali cu bob neted și galben și cu bob zbîrcit și verde), au apărut și două categorii de organisme cu caractere recombinate, de la ambii părinți : cu bob neted și verde $\left(\frac{3}{16}\right)$ și cu bob zbîrcit și galben $\left(\frac{3}{16}\right)$. Ca să explice apariția acestor două categorii de organisme, M e n d e l a tras concluzia că perechea de factori ereditari care determină forma bobului (Nz) segregă independent, la nivelul organismelor heterozigote (NG zv), de perechea de factori ereditari ce determină culoarea (Gv). Această concluzie este considerată legea a II-a a lui Mendel și poate fi definită ca legea segregării independente a perechilor de factori ereditari (sau de caractere), aplicîndu-se perechilor de factori ereditari plasați în loci diferiți pe cromozomi diferiți. Fenomenul de segregare a factorilor ereditari ne arată că factorul ereditar dominant și cel recesiv coexistă la hibrizi (heterozigoți), fără a se contopi, fără a se amesteca. Segregarea are și importanță practică. În practica ameliorării fenomenul heterozis este condiționat de starea heterozigotă. Ea este de 100% în F_1 și scade la jumătate cu fiecare generație, ajungînd în a 6-a—a 8-a generație de consangvinizare (autopolenizare), la obținerea de linii pure genetic (organisme homozigote). Fenomenele de recesivitate și segregare ne explică totodată de ce unele caractere pe care nu le manifestă fenotipic părinții reapar la copii, caracterele recesive, sărind o generație.

Există și cazul de semidominanță sau dominanță incompletă cînd din încrucișarea dintre două soiuri cu caractere contrastante (flori roșii și flori albe, la *Mirabilis jalapa*) rezultă hibrizi cu caracter intermediar (fori roz). În F_2 are loc segregarea în raport de 1 : 2 : 1 (25% flori roșii ; 50% flori roz ; 25% flori albe) (planșa VI).

În caz de supradominanță, hibrizii din F_1 prezintă caractere mult superioare părinților (fenomen heterozis).

Caracterele cantitative (de producție) sînt determinate poligenic, în care caz apare un raport de segregare diferit de cel tipic. De exemplu, în determinismul culorii pielii la om intervin două perechi de gene nealele P_1p_1 și P_2p_2. La negri, formula genotipică este $P_1P_1P_2P_2$, la mulatri tipici $P_1p_1P_2p_2$, iar la albi, $p_1p_1p_2p_2$. Se observă că cu cît sînt mai multe gene în stare dominantă, cu atît intensitatea culorii este mai mare. Din căsătoria a doi mulatri rezultă o descendență în raport de $\frac{1}{16}$ negru ; 4/16 mulatri închis, 6/16 mulatri tipici, 4/16 mulatri deschis, 1/16 albi (raport de segregare 1 : 4 : 6 : 4 : 1).

Atunci cînd în segregare nu apare o categorie de indivizi, înseamnă că acționează gene letale, care modifică raportul de segregare, determinînd moartea organismelor purtătoare. Genele letale se manifestă în stare homozigotă — dominantă sau recesivă. Se cunosc și cazuri de polialelie, în care un caracter (de exemplu, culoarea ochilor de drosofilă) este determinat de mai multe gene plasate în același locus pe cromozomi omologi. Într-o popu-

Scanned with OKEN Scanner

laţie de drosofilă sînt indivizi de tip sălbatic (normali) cu ochi roşii (formula genetică w^+w^+), alţii cu ochi de culoarea caisei ($w^{apr}w^{apr}$), gena w^{apr}, fiind plasată în acelaşi locus pe cromozomi omologi, precum gena w^+ la indivizii cu ochi roşii (tip normal sau sălbatic). Există indivizi cu ochi albi (ww), gena w fiind recesivă, plasată şi ea în acelaşi locus precum genele w^+ şi w^{apr} etc. Culoarea roşie este dominantă faţă de caisă şi albă. Culoarea caisă este dominantă faţă de albă, iar culoarea albă este recesivă faţă de toate culorile. Un caz tipic de polialelie se întîlneşte la determinarea genică a grupelor sanguine la om, în care intervin trei gene alele : L^A, L^B şi l. Grupa sanguină A are determinismul genetic L^AL^A (indivizi homozigoţi) sau L^Al (heterozigoţi), grupa B, L^BL^B sau L^A l. Din interacţiunea genelor L^A şi L^B rezultă un nou fenotip — grupa sanguină AB, iar grupa O are genotipul ll. Genele polialele apar în urma unor mutaţii succesive ale genei de tip sălbatic (normale).

■ **Exerciţiul 1** — Care va fi grupa sanguină a copiilor şi raportul de segregare în cazul unor căsătorii între părinţi ce au următoarele formule genetice ale grupelor sanguine : $L^AL^A \times L^AL^A$; $L^AL^A \times L^Al$; $L^Al \times L^Al$; $L^AL^A \times L^BL^B$; $L^AL^A \times L^Bl$; $L^Al \times L^Bl$; $L^AL^A \times ll$ $L^A \times ll$; $L^BL^B \times ll$; $L^Bl \times ll$; $ll \times ll$?

— Cunoscînd grupa sanguină a părinţilor şi a fraţilor şi surorilor stabiliţi dacă sînteţi homozigoţi ori heterozigoţi pentru acest caracter.

— Care va fi decizia medicului legist în cazul în care mama are grupa sanguină O, tatăl împricinat are grupa sanguină O, iar copilul are grupa sanguină A ? Poate fi împricinat tatăl cînd ambii părinţi au grupa sanguină A, iar copilul grupa sanguină O ? Care este procentul de certitudine ?

■ **Exerciţiul 2** — Există o rasă de găini numită de Andaluzia, unele găini fiind albe, altele negre, iar altele albastre.

— cele negre dau întotdeauna indivizi negri ;

— cele albe dau întotdeauna indivizi albi ;

— cele albastre dau indivizi negri, albi şi albaştri. Din încrucişarea negru × × alb rezultă totdeauna indivizi albaştri.

— Caracterizaţi din punctul de vedere al purităţii genetice cele trei tipuri de indivizi : care sînt puri şi care sînt hibrizi ? Spuneţi ce este o linie pură şi ce este un hibrid ?

— Dacă caracterul de penaj negru este dominant şi dat de factorul N, iar cel de penaj alb este de asemenea dominant şi dat de factorul A, care este formula genetică pentru condiţia heterozigotă ? În acest caz este vorba de o dominanţă completă sau de o semidominanţă ? Care este raportul de segregare în F_2 la încrucişare negru × alb ? Faceţi schema.

■ **Exerciţiul 3** — Stabiliţi care sînt rezultatele unei retroîncrucişări (încrucişarea între un individ presupus a fi hibrid cu părintele de tip recesiv) :

NN × zz_____ ?

Nz × zz_____ ?

— Se poate stabili prin această retroîncrucişare care este constituţia genetică a unui organism ? Care este explicaţia ?

■ **Exerciţiul 4** — Verificaţi ipoteza segregării independente a caracterelor prin analiza rezultatelor retroîncrucişării :

Nz Gv × zzvv.

— Explicaţi rezultatele şi confirmaţi ipoteza.

■ **Exerciţiul 5** — Din încrucişarea între două linii pure de porumb, una cu boabe colorate şi netede, alta cu boabe incolore şi zbîrcite, toate plantele din F_1 au dat boabe colorate şi netede.

— Care sînt caracterele dominante şi care sînt cele recesive ? Simbolizaţi prin litere genele corespunzătoare.

— Prin retroîncrucişare se obţin 4 032 plante cu boabe colorate şi netede, 4 035 plante cu boabe incolore şi zbîrcite, 149 cu boabe colorate şi zbîrcite, precum şi 152 cu boabe incolore şi netede. Cum explicaţi aceste rezultate ? Ilustraţi explicaţiile date.

1.3.7. Exerciţii de caracterizare genetică

■ **Exerciţiul 6.** *Stabilirea spectrului genetic individual*

Condiţie : experimentatorul, pentru această experienţă trebuie să-şi cunoască bunicii şi eventual străbunicii (poate culege date de la părinţi, bunici etc.).

Materiale necesare : o coală de hîrtie, compas, echer, riglă. Se iau în consideraţie următoarele caractere individuale :

1. Culoarea ochilor : culoarea albastră este recesivă faţă de alte culori.
2. Culoarea părului : păr blond-recesiv faţă de cel închis ; păr roşu recesiv faţă de culorile mai închise.
3. Direcţia de orientare a părului ; vîrtej în direcţia mersului acelor ceasornicului dominant faţă de vîrtejul în sens invers.
4. Păr creţ dominant faţă de cel neted.
5. Prezenţa părului pe segmentul mijlociu al degetelor (altele decît arătătorul) dominantă faţă de absenţa părului.
6. Daltonismul (confuzia culorilor) recesiv faţă de vederea normală.
7. Chelia prematură sau regulată este moştenită ca un caracter dominant care se manifestă în jurul vîrstei de 34 ani. Caracterul nu se manifestă decît extrem de rar la femei (este un caracter limitat la sex). Elevii pot să aprecieze situaţia lor, judecînd pe cea a părinţilor, dată fiind dominanţa caracterului.
8. Lobul aderent al urechii este recesiv faţă de cel liber sau pendul.
9. Posibilitatea de a da degetul mare pe spate dominantă faţă de condiţia opusă cu ligamente strînse.
10. Capacitatea de a degusta unele substanţe precum tioureea sau feniltiocarbomida este dominantă faţă de incapacitatea de a degusta aceste substanţe.
11. Prezenţa gropiţei în obraz dominantă faţă de absenţa acesteia.
12. „Vîrful văduvei" — părul de pe frunte extins în centrul ei ca un triunghi — dominantă faţă de linia dreaptă a părului pe frunte.
13. Capacitatea de a îndoi limba, astfel încît marginile laterale să formeze un „U" este dominantă faţă de incapacitatea de a îndoi astfel limba.

Mod de lucru. Se alcătuieşte o hartă privind caracteristicile individuale ereditare ale fiecărui individ după modelul din figura 33.

Scanned with OKEN Scanner

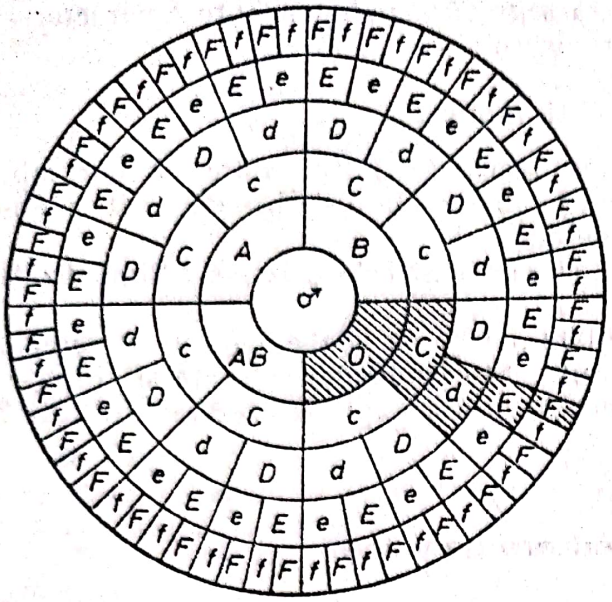


Figura 33. Spectrul genetic individual reprezentînd un băiat cu grupa sanguină 0, degustător pentru PTF, care nu poate îndoi limba lateral, cu ochi de culoare închisă, cu lobii urechii liberi etc. : *C/c* — capacitatea/incapacitatea de a gusta PTF ; *D/d* — capacitatea/incapacitatea de a îndoi limba lateral ; *E/e* — ochi de culoare închisă/ochi albaștri ; *F/f* — lobii urechii liberi/lobi atașați.

1.3.8. Alte exerciții de analiză genetică

■ **Exercițiul 7.** La tomate, fructul roșu este dominant față de cel galben, iar planta cu tulpina înaltă dominantă față de aceea cu tija joasă. Un grădinar are linii pure (homozigote) de plante cu tija înaltă și fructe galbene și plante cu tija joasă și fructe roșii. El dorește să obțină o linie pură de plante cu tija înaltă și fructe roșii.

1) *Încrucișînd cele două soiuri pe care le are, ce va obține în* F_1 ?

2) *Cînd efectuează autopolenizarea, va produce linia pură dorită* ?

3) *Care va fi fenotipul plantelor în* F_2 ? *Cîte vor fi homozigote* ? *Cum se obțin organisme homozigote* ?

■ **Exercițiul 8.** Un bărbat cu ochi albaștri și pistruiat se căsătorește cu o femeie cu ochi căprui și fără pistrui. Ei au avut șase copii :

— doi cu ochi albaștri, fără pistrui ;
— unul cu ochi albaștri, cu pistrui ;
— doi cu ochi căprui, cu pistrui ;
— unul cu ochi căprui, fără pistrui.

Să se stabilească genotipurile părinților și ale copiilor în cazul în care caracterul „pistruiat" este dominant.

■ **Exercițiul 9.** Hemofilia și daltonismul sînt boli ereditare la om, determinate de genele recesive „h" respectiv „d", plasate pe cromozomul X (sexlincate). Să se stabilească cînd se manifestă la femeie și cînd la bărbat aceste gene. Manifestarea unei gene recesive în doză simplă la organismele diploide se numește hemizigoție.

De ce la femeie genele „h" și „d" nu se manifestă în stare hemizigotă ?

De ce la bărbat aceste gene se manifestă în această stare ?

Scanned with OKEN Scanner

Ce va rezulta din următoarele căsătorii: $X^hX \times XY$; $XX \times X^hY$, $X^hX \times X^hY$; $X^dX \times XY$; $XX \times X^dY$; $X^dX^d \times XY$; $X^dX^d \times X^dY$?

Notă. În condiție homozigotă (X^hX^h) gena hemofiliei este letală, nu însă și gena daltonismului.

1.4. REPRODUCEREA SISTEMELOR INDIVIDUALE

Reproducerea reprezintă o caracteristică specifică sistemelor biologice prin care se asigură continuitatea lor de-a lungul unor perioade mari de timp, de durata erelor geologice. Capacitatea ființelor vii de a se reproduce este cea mai remarcabilă proprietate a acestora. Reproducerea este în esență procesul prin care organismele vii își asigură continuitatea prin producerea de indivizi asemănători celor existenți în generația anterioară. Folosind drept cale de transmitere calea genetică, în procesul reproducerii se transmit planurile arhitecturale ale viitorului organism înscrise în informația genetică a speciei considerate.

Evoluția biologică a înregistrat o imensă variabilitate a tipurilor de reproducere, de la sciziparitatea celulelor de tip procariot, la complicatele și perfecționatele mecanisme ale reproducerii sexuate întîlnită, începînd de la formele cele mai inferioare pînă la plantele și animalele superioare, incluzînd specia umană.

Reproducerea apare și ca rezultat al faptului că durata de viață a sistemelor individuale este limitată, iar elementele lor componente suferă o continuă degradare în timp. Ele se cer înlocuite. Cînd au realizat autoreproducerea, ele și-au îndeplinit rolul în viața speciei. Aspectele caracteristice reproducerii sînt duplicarea, producerea de descendenți asemănători părintelui și continuitatea (transferul de material biologic din generație în generație).

În esență, reproducerea sistemelor biologice se asigură prin înmulțirea vegetativă, înmulțirea asexuată și înmulțirea sexuată. Atît la plante cît și la animale unicelulare forma cea mai simplă de reproducere este deviziunea celulară. În vederea reproducerii organismelor pluricelulare se diferențiază organe speciale de reproducere, care asigură fie reproducerea asexuată, fie reproducerea sexuată. În cursul evoluției viețuitoarelor a fost elaborată o multitudine de mecanisme, prin care acestea își asigură autoreproducerea.

1.4.1. Reproducerea prin diviziune celulară

Foarte frumoase imagini referitoare la reproducerea sistemelor individuale, prin diviziune celulară, pot fi surprinse, studiind algele diatomee, *Navicula*, *Cyclotella Nitschia*, *Cymbella*, *Pinnularia*, *Cocconeis* sau flagelate precum *Euglena* (fig. 34 *A* și *B*). Ele pot fi foarte ușor procurate din ape stătătoare sau curgătoare de pe suprafața organelor plantelor submerse, de pe ghivece de flori din sere și uneori din încăperi. În cazul euglenei celulele apar sub forma unei pelicule neustonice la suprafața apei. La diatomee celulele rezultate în urma diviziunilor celulare succesive se dispun în șiraguri, una lîngă alta, menținute

Scanned with OKEN Scanner

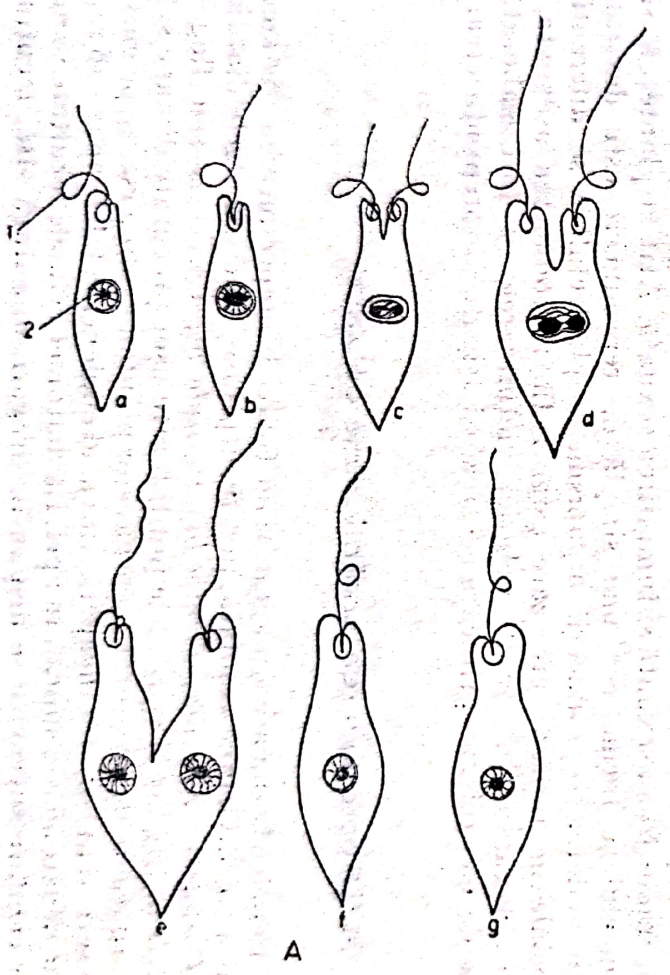
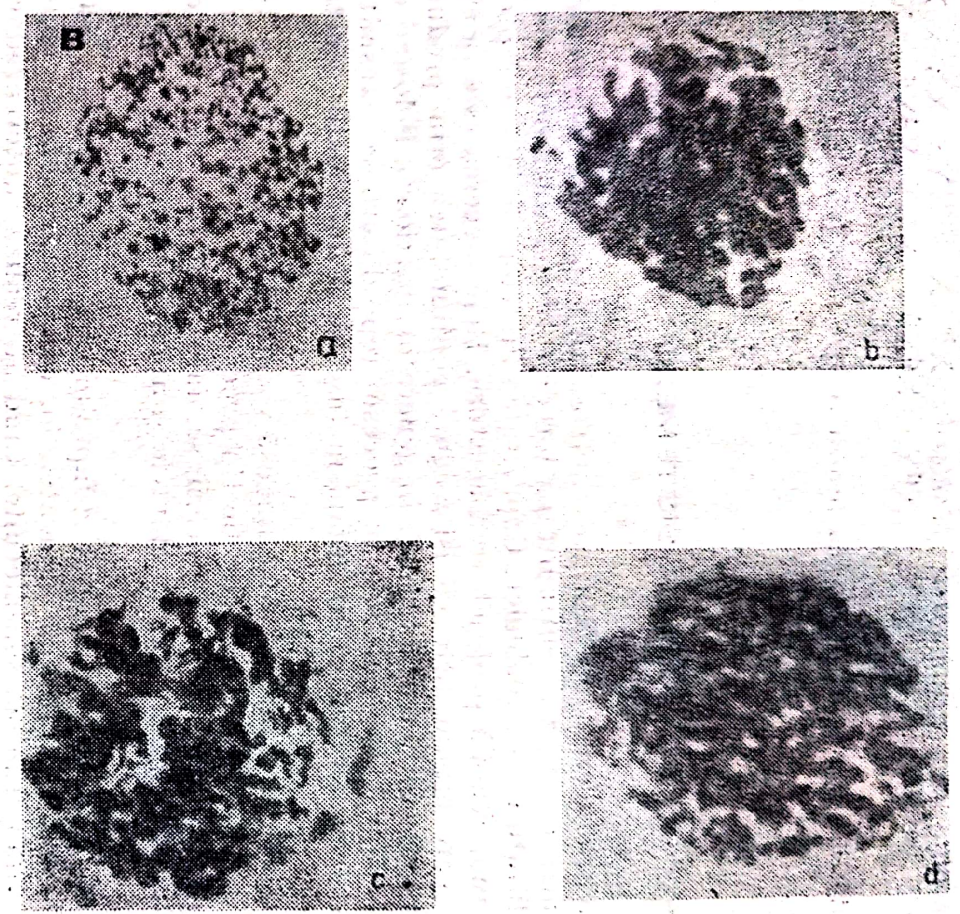


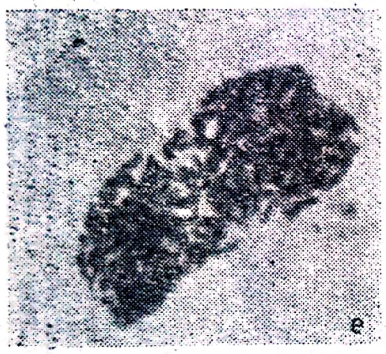
Figura 34. *A* — **Faze succesive în diviziunea nucleară şi celulară la** *Euglena*; *1* — flagel; *2* — nucleu.

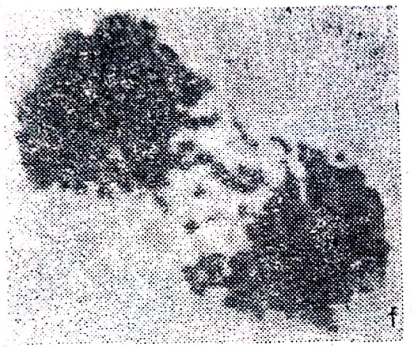


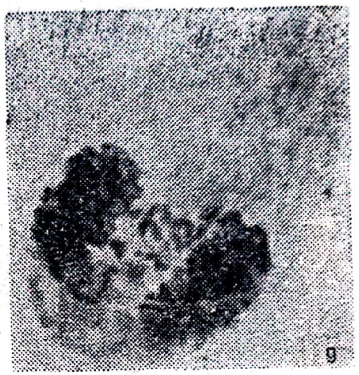
B — **Evidenţierea microscopică a diferitelor faze de diviziune la** *Euglena terricola*:

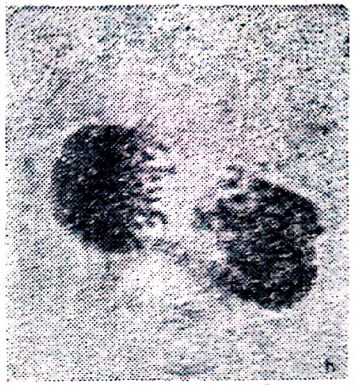
a — interfază; *b* — profază (cromozomi dedublaţi); *c*, *d* — metafază; *e*, *f* — anafază; *g*, *h*, *i* — anatelofază; *j* — telofază; *k* — plasmodiereză la *E. clara*; *l* — plasmodireză la *E. terricola*.

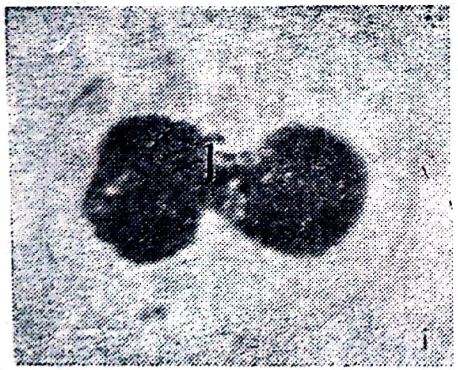
Scanned with OKEN Scanner

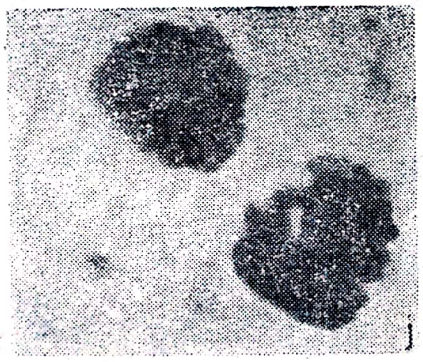












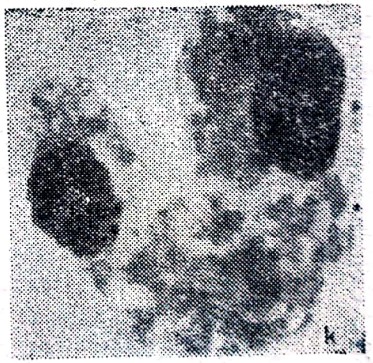


Fig. 34 *B*.

Scanned with OKEN Scanner

astfel de o substanţă gelatinoasă. La algele albastre *Nostoc*, *Oscillatoria* şi *Anabaena* poate fi studiată diviziunea celulară prin sciziparitate (constricţie mediană), amintind de diviziunea bacteriilor (fig. 35).

■ **Exerciţiu practic** : studiaţi o cultură de *Euglena*, *Nostoc* sau *Navicula* (sau material din „înfloriri"). Indicaţi celulele aflate în diviziune. Analizaţi cinci cîmpuri microscopice diferite şi stabiliţi raportul numeric dintre celulele aflate în diviziune şi cele care nu se divid. Încercaţi să stabiliţi o succesiune a fazelor de diviziune la *Euglena*.

Încercaţi să stabiliţi diferenţa între tipul de diviziune celulară la alga albastră *Nostoc* sau *Anabaena* şi la alga *Euglena*. Diviziunea celulară la *Nostoc* este asemănătoare cu aceea de la bacterii şi se realizează prin sciziparitate (fig. 36). Celula este divizată în două, prin înaintarea simetrică de pe cei doi

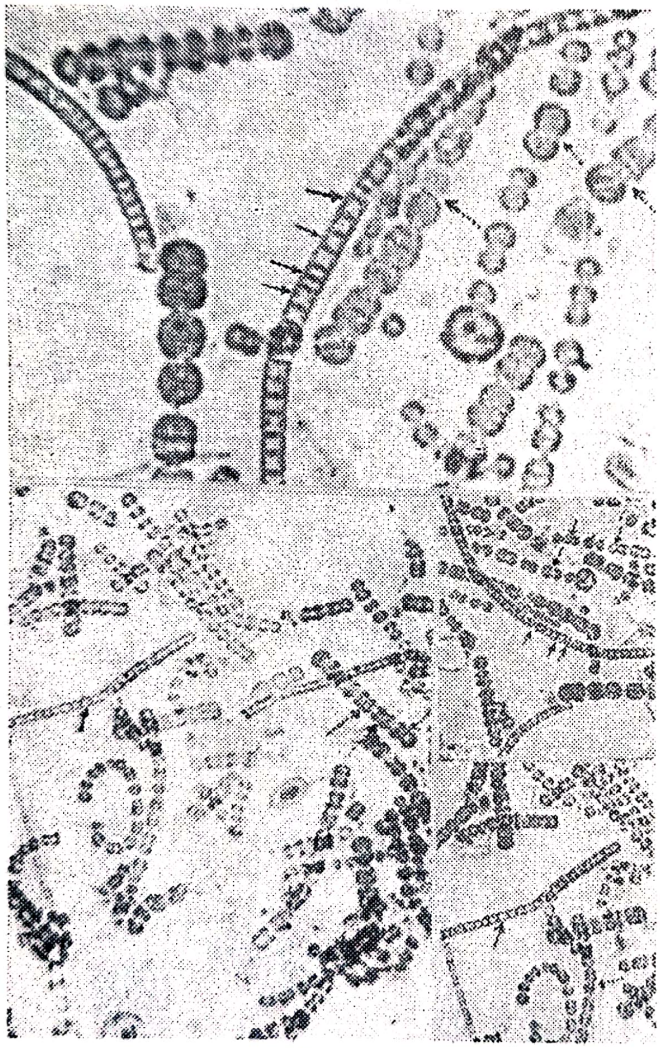
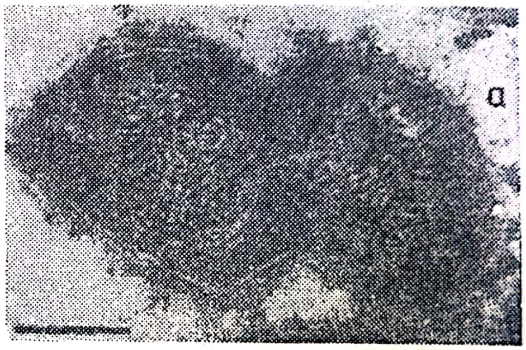


Figura 35. **Diviziunea nucleoidului algelor albastre :** *Anabaena* (filamente în şirag) **şi** *Oscillatoria* (filamente drepte) **prezentînd diferite faze ale diviziunii nucleoidului** (zona albă din interiorul celulelor) **şi ale diviziunii celulelor prin constricţie mediană.** (Săgeată simplă — diviziunea nucleoidului ; săgeată punctată — diviziunea celulară.)



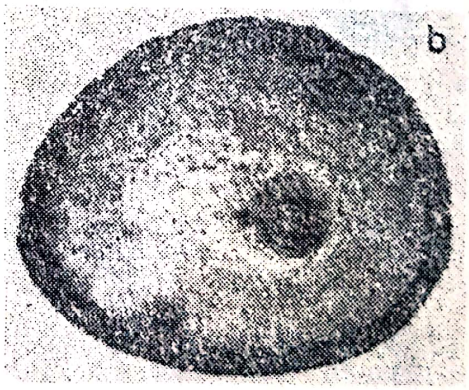


Figura 36. **Diviziunea celulară prin sciziparitate la procariote :**
a — *Mycoplasma sp.* — secţiune ultrafină printr-o celulă aflată în diviziune ; *b* — *Staphylococcus aureus* în diviziune realizată prin înaintarea unui sept de pe pereţii opuşi ai membranei celulare spre centrul celulei.

Scanned with OKEN Scanner

pereți opuși, spre centrul celulei, a unui sept. La microscop poate fi ușor remarcată în cadrul unui filament de *Nostoc*, diferența dintre celulele aflate în diviziune (apar cu o strangulare — constricție mediană) și cele care nu se află în diviziune (care apar cu pereții laterali drepți). Reproducerea vegetativă se poate studia la salcie (butași), la cartof (tubercul) etc.

1.4.2. Regenerarea la planarii

Planariile sînt viermi turbelariați, care trăiesc în ape dulci liniștite și se află sub pietre sau pe fața inferioară a plantelor acvatice.

■ **Procedeu practic.** Cu ajutorul lamei de ras se face o secțiune longitudinală sau transversală la diferite nivele ale corpului planariei. Fragmentele rezultate se pun într-un vas Erlenmeyer în care se află apă luată odată cu materialul biologic și filtrată prin hîrtie de filtru. Se urmărește regenerarea planariilor din fragmente (fig. 37).

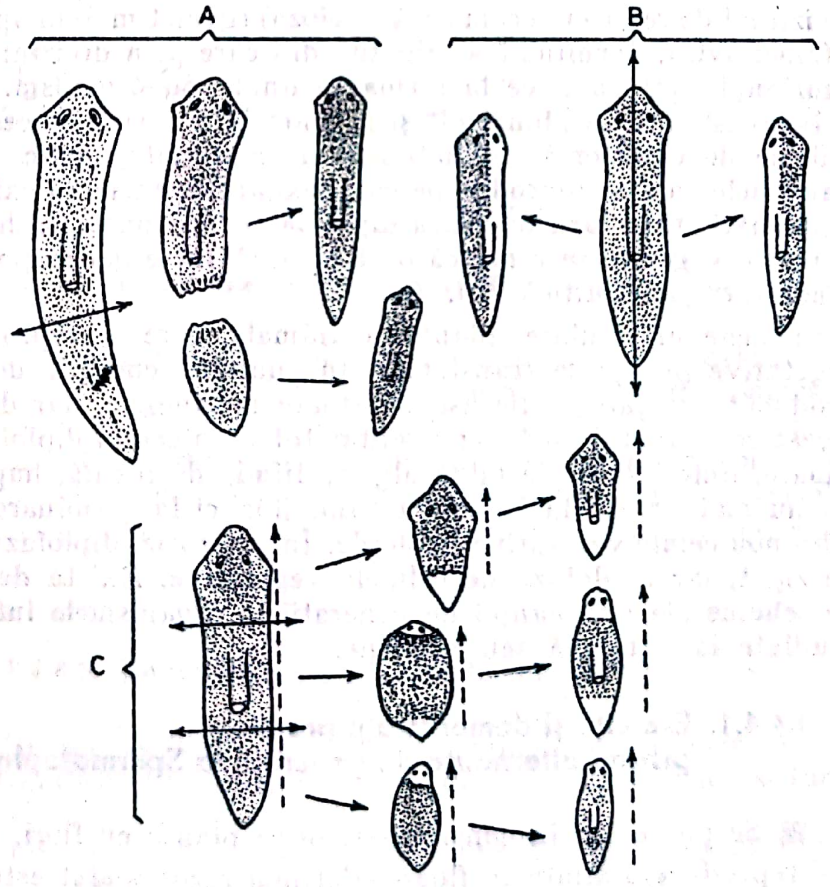


Figura 37. Regenerarea la planarie: *A* — după secționare transversală; *B* — după secționare longitudinală; *C* — după dublă secționare transversală.

Scanned with OKEN Scanner

1.4.3. Reproducerea asexuată

Reproducerea asexuată este asigurată, ca și cea vegetativă, de către un singur genitor. Este un tip de ereditare uniparentală, în care descendența derivă dintr-un singur individ. Caracterizează formele unicelulare sau pluricelulare. Chiar diviziunea celulară este un tip particular de reproducere asexuată la multe forme inferioare de viață, prin care identitatea vechiului individ celular dispare odată cu formarea a doi noi indivizi — celule.

1.4.3.1. Reproducerea asexuată prin spori la plante

Este un tip de reproducere asigurată de către un singur genitor. Germenii asexuați sînt reprezentați de celule specializate numite spori. Poate fi studiată la mucegaiuri, precum *Mucor mucedo*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* și la algele albastre (*Nostoc*) în care caz se numesc achineți.

1.4.4. Reproducerea sexuată

În esență, reproducerea sexuată se realizează prin unirea în procesul fecundației a două celule sexuate de sex opus, numite gameți, rezultate în urma diviziunii de reducere cromatică (meioza) (gamet mascul-spermatozoid și gamet femel-ovul), formîndu-se zigotul din care prin diviziuni succesive rezultă embrionul care va duce la formarea unui nou organism. Înmulțirea sexuată se întîlnește atît la plante cît și la animale. La baza procesului sexuat stau mecanisme de transfer și recombinare de material genetic.

La organismele care se reproduc pe cale sexuată se remarcă existența unei riguroase alternări între faza nucleară diploidă și faza nucleară haploidă. La multe organisme vegetale se remarcă o alternanță între generația sporofitică (2n) și generația gametofitică (n).

La organismele unicelulare, plante și animale, care se reproduc sexuat, celulele vegetative pot să se transforme, în anumite condiții de mediu, în celule reproducătoare care să fie asemănătoare morfologic, dar diferite fiziologic. În acest caz, zigotul va fi reprezentat tot de o celulă diploidă (organismele inferioare, unicelulare, de pildă algele, fiind, de regulă, haplobiontice), dar meioza nu mai are loc la formarea gameților, ci la germinarea zigotului, rezultînd din nou celule vegetative haploide. În acest caz, diplofaza este reprezentată de zigot, iar haplofaza de celulele vegetative. Există desigur foarte complicate scheme ale alternanței de generații la organismele inferioare. Ele au fost studiate la botanică sau zoologie.

1.4.4.1. Exerciții și demonstrații practice privind alternanța de generații la Spermatophyta

■ Se poate lua în considerație orice plantă cu flori, studiindu-se organele de reproducere aflate în floare. Cel mai recomandat este porumbul, la care florile sînt unisexuat monoice (pe aceeași plantă se află și florile ♀ și cele ♂, dar separate; cele ♂ în panicul, cele ♀ în spadix = știulete).

Scanned with OKEN Scanner

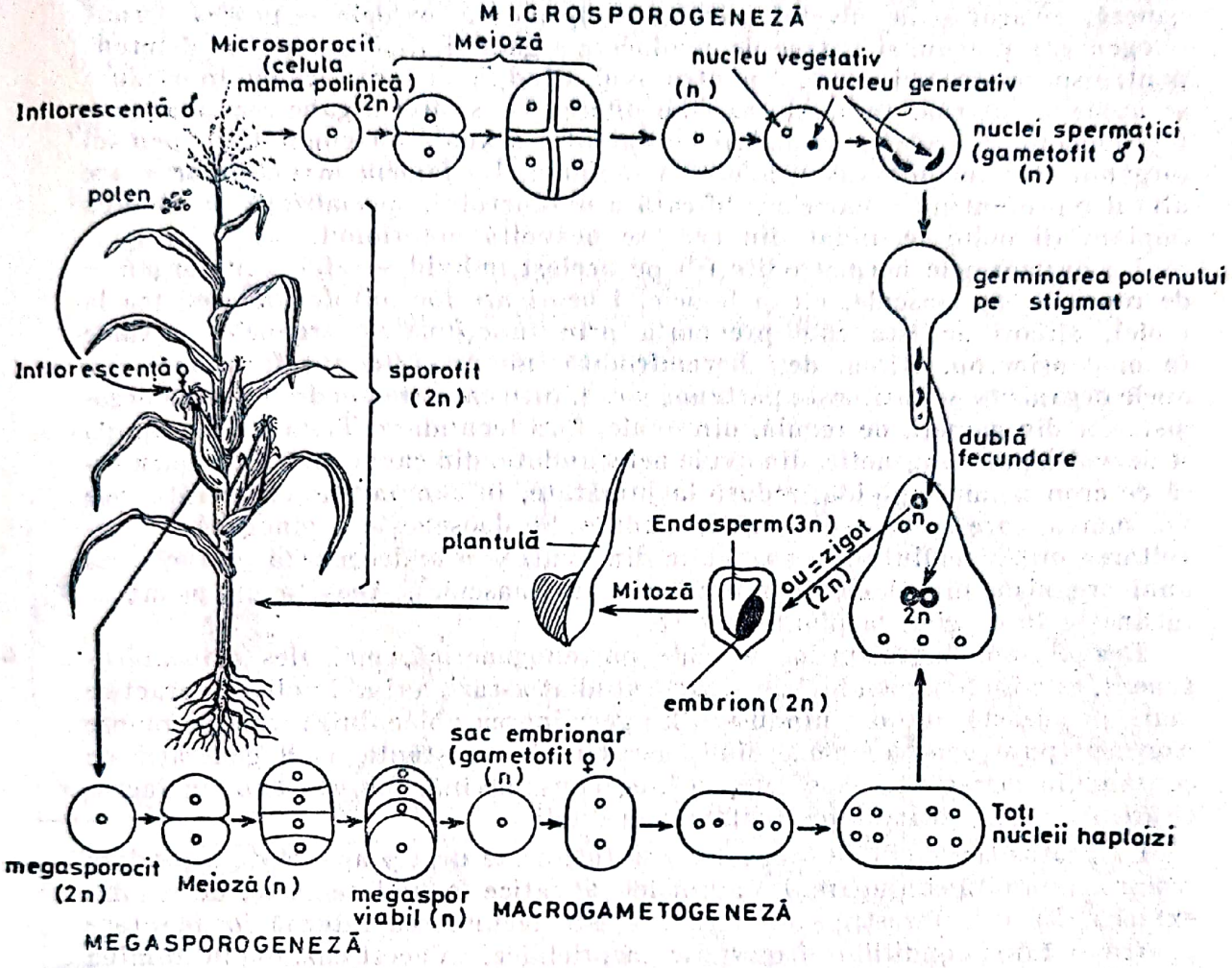


Figura 38. **Schema alternanței de generații la o spermatofită** (porumb).

Se pot studia staminele și observa polenul. Se face legătura cu meioza. Polenul rezultă în urma diviziunii meiotice a celulelor din antera staminelor (microsporogeneză). El este de fapt microsporul. Pe știulete se află florile ♀. Stigmatul lor este reprezentat de mătase. Un nucleu spermatic fecundează oosfera, iar altul, nucleul secundar al sacului embrionar. Diversele părți ale plantei se încadrează în următoarea schemă (fig. 38) privind alternanța de generații.

1.4.4.2. Reproducerea sexuată la animale

În reproducerea sexuată a animalelor, celulele reproducătoare pot să fie asemănătoare (izogamie) sau să difere ca mărime și formă (anizogamie).

La organismele inferioare, celulele sexuate (gameții) sînt eliberate în mediul lor de viață. În acest caz fecundarea este externă. La organismele evoluate unele organe s-au specializat în vederea reproducerii (testicul— la nivelul căruia are loc formarea spermatozoizilor, proces numit spermato-

Scanned with OKEN Scanner

geneză, ovarul — la nivelul căruia se formează ovulele — proces numit ovogeneză), precum și organe de conducere a gameților și anume vas deferent pentru spermatozoizi, oviduct pentru ovul. Cînd fecundarea are loc în oviduct se numește internă. În acest caz s-au diferențiat și alte organe secundare ale reproducerii în vederea realizării contactului sexual sau copulației : penisul (organul care include vasul deferent) și vulva. La femela mamiferelor apare uterul reprezentînd o parte modificată a oviductului, specializată în vederea implantării oului fecundat din care se dezvoltă embrionul.

La organismele hermafrodite (♀) pe același individ se află atît organele de reproducere mascule, cît și femele. Uneori are loc autofecundarea (ca la tenie), alteori aceasta este prevenită prin funcționarea organelor sexuale în mod asincron. Rîma, deși hermafrodită, nu prezintă autofecundare. La unele organisme se întîlnește partenogeneza, prin care are loc dezvoltarea organismelor din gameți, de regulă, din ovule, fără fecundare. Trîntorul de albină se dezvoltă partenogenetic, din ovule nefecundate, din care cauză are o garnitură de cromozomi haploidă, redusă la jumătate, în comparație cu lucrătoarele sau matca, care se nasc din ouă fecundate. Se deosebește o ginogeneză (dezvoltarea organismului partenogenetic din ovul) și o androgeneză (dezvoltarea unui organism din elemente reproducătoare mascule). Aceasta din urmă se întîlnește în special, la plante.

Dezvoltarea organismelor pe cale partenogenetică, mai ales prin androgeneză, este un fenomen biologic foarte studiat astăzi, avînd implicații practice mari, pe această cale obținîndu-se (din germinarea polenului) forme de plante izogene (pure genetic) nemaifiind necesar să se aștepte 6—8 generații de consangvinizare pentru a se crea o linie consangvină, folosită apoi în încrucișări, spre a se obține hibrizi simpli sau dubli.

La protozoarele ciliate (parameci) se întîlnește un tip aparte de fecundare reciprocă numită conjugare. La animalele acvatice fecundarea este, de regulă, externă. La cele terestre caracteristică este fecundarea internă, o adaptare pentru evitarea condițiilor atmosferice neprielnice. În acest caz, ovulul rămîne pe tractusul genital femel, iar spermatozoizii sînt însemințați prin contact sexual (copulație). De regulă, un singur spermatozoid fecundează ovulul. Cel mai perfecționat organ copulator este penisul mamiferelor. Păsările sînt ovipare. Oul este eliberat și, în cazul în care a fost fecundat intern, se dezvoltă în continuare în afara corpului lor. Vipera este ovovivipară, ouăle nefiind eliberate în afară ca la celelalte reptile, embrionul dezvoltîndu-se intern.

Viviparitatea caracterizează organismele ce nasc pui vii. Se întîlnește la unii pești, precum gupiile, dar tipică este pentru mamifere. La acestea apare o structură specială numită placentă care asigură legătura dintre circulația sanguină a organismului matern și aceea a embrionului.

Reproducerea sexuată tipică este biparentală.

■ Studiul spermatogenezei la hamster

Materialele necesare : aceleași ca la studiul meiozei la animale.

Mod de lucru. După disecția animalului se detașază testiculele, se îndepărtează albugineea și se pun organele într-un cristalizator cu soluție fiziologică de NaCl 0,9 % sau soluție Ringer. Se mărunțesc cu foarfecele după care se ia o picătură din materialul celular dispersat în soluție fiziologică și se pune pe lamă. Se observă la microscop. Se remarcă spermatozoizii vii care înoată activ. În preparatele microscopice făcute pentru studiul meiozei se remarcă

Scanned with OKEN Scanner

structura sepermatozoidului. Acesta are cap triunghiular, prelungit cu un acrozom curbat și o piesă intermediară foarte lungă, care se subțiază progresiv, trecînd în flagel (fig. 39).

Spermatozoidul și ovulul uman se studiază comparativ folosind figurile 39 și 40.

În figura 41 se pot urmări stadii succesive ale procesului de fecundare la animale.

■ **Întrebări**

— Care este asemănarea între spermatozoidul de om și cel de hamster ?

— Care este deosebirea dintre aceste două tipuri de gameți masculi ?

— Care sînt caracteristicile ovulului ?

— Ce fel de reproducere sexuată se întîlnește la om : izogamă sau anizogamă ?

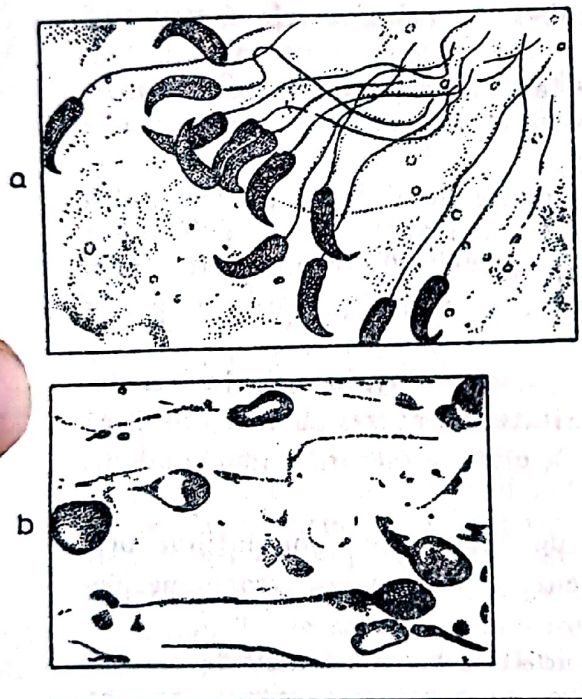


Fig. 39. Celule reproducătoare masculе (spermatozoizi) văzute la microscop : *a* — la hamster ; *b* — la om ; *c* — la șobolan.

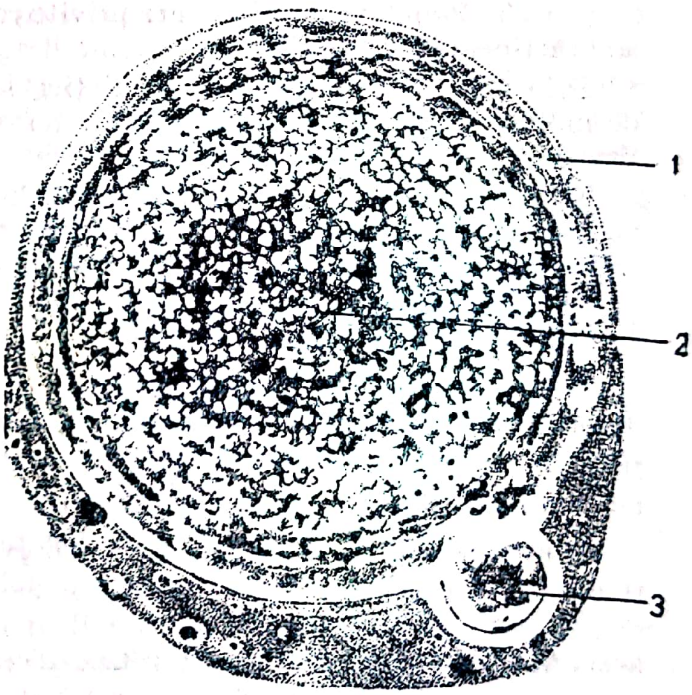


Figura 40. Celulă reproducătoare femelă (ovul) la om : 1 — membrană ; 2 — nucleul ovulului ; 3 — globul polar.

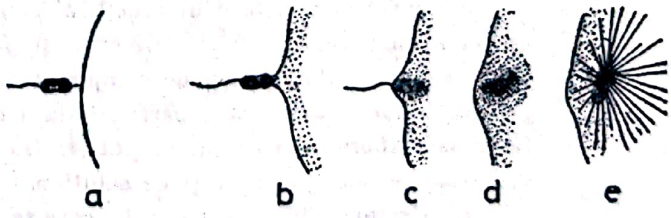


Figura 41. Stadii succesive în fecundarea la animale : *a* — apropierea spermatozoidului de membrana ovulului ; *b* — formarea conului de fecundare ; *c*, *d* — pătrunderea corpului spermatozoidului în ovul ; *d* — cariogamie ; *e* — începutul diviziunii nucleului zigotului.

Scanned with OKEN Scanner

— Care este raportul nucleu — citoplasmă la spermatozoizi și la ovul? Ce concluzie trageți de aici?

— Care sînt aspectele de ordin general referitoare la cele două categorii de celule sexuale?

■ **Fecundarea**

1. Urmăriți după figura 42 stadiile succesive ale fecundării.
2. Care este rezultatul fecundării?
3. Care este evoluția ulterioară a produsului rezultat din fecundare?

1.5. STRUCTURA ȘI FUNCȚIONALITATEA SISTEMELOR ECOLOGICE POPULAȚIONAL ȘI BIOCENOTIC

Populația și biocenoza privite ca sisteme ecologice relevă structuri și funcționalități specifice.

Prin structura ecologică a populației, se înțelege raportul între grupurile de indivizi din punct de vedere al vîrstei, sexului sau modului cum se repartizează în spațiu (structură topografică).

Structura biocenozei se desemnează în funcție de nivelele trofice, adică de specializările fundamentale ale organismelor de a utiliza energia. Nivelele trofice ale biocenozei sînt corelate funcțional pe principiul piramidei eltoniene.

Funcționalitatea sistemelor ecologice citate se poate urmări din punct de vedere numeric și energetic.

Reglarea numerică a populației în biocenoză se realizează în funcție de acțiunea factorilor dependenți de densitate (concurență intraspecifică și interspecifică, prădătorism, parazitism etc.), cît și a factorilor independenți de densitate (factori abiotici și genetici).

Funcționalitatea energetică este legată de capacitatea populațiilor biocenozei de a produce biomasă în care înglobează sau din care extrage energie-

Notă: Lucrările practice din capitolul de față se vor referi numai la manifestările ecologice ale populației și biocenozei care permit ilustrarea principiilor de organizare sistemică. Pe de altă parte procesele genetice au format obiectul capitolului privind „Ereditatea" — iar funcționalitatea genetică a sistemului populațional va fi tratată în capitolul „Evoluționismul".

În sensul celor citate în prezentul capitol au fost selecționate lucrări practice din domeniul structurii, reglării numerice și productivității celor două sisteme: populația și biocenoza. Ținînd seama de complexitatea structurii și funcționalității sistemelor supraindividuale, ilustrarea experimentală a multor aspecte impune lucrări complicate de teren sau laborator, care nu se pot realiza într-un interval scurt de cîteva ore. Există următoarele două modalități de soluționare a problemei care au fost folosite:

1. selectarea de lucrări simple, care se vor desfășura pe intervalul a 2—3 săptămîni în care se vor efectua observații și intervenții odată pe săptămînă pe parcursul unei ore; se va înregistra astfel situația din anumite etape ale procesului;

2. modelarea procesului care în acest fel este prezentat simplificat (redus la cîteva aspecte fundamentale ce se urmăresc) și concentrat în timp.

Scanned with OKEN Scanner

1.5.1. Structura ecologică a sistemului populațional și biocenotic

1.5.1.1. Piramida vîrstelor la Drosophila melanogaster

Materiale necesare: imago (adult) de *Drosophila melanogaster*, borcane de 250 ml acoperite etanș cu tifon, mediul de cultură pentru drosofilă, lupă 5x, cloroform, creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Se realizează un mediu simplu de cultură. În acest scop se va folosi un amestec în părți egale de mălai și omogenat de fructe (din care s-au eliminat sîmburii, coaja și părțile tari). Se adaugă apă și se amestecă bine. Se fierbe pînă mediul capătă consistență. Se adaugă puțină drojdie pentru a grăbi fermentația și se toarnă călduț în borcanul de cultură sub forma unui strat de 1,5—2 cm grosime. Se lasă să se întărească. În vas se introduc indivizii adulți din primul stadiu (a se vedea mai jos) în număr de circa 5 perechi. Pentru aceasta controlul preliminar al sexului indivizilor este absolut necesar. Controlul se realizează la lupă 5x, indivizii fiind anesteziați cu cloroform pînă la o mobilitate foarte redusă. Anestezia se realizează în vasul de captură datorită unui dop de vată, umectat cu cloroform. Sexul se recunoaște după forma și numărul de inele abdominale (v. fig. 24). La femelă abdomenul este terminat ascuțit, în timp ce la mascul el este rotunjit. Femela posedă 7 inele abdominale (existînd în total circa 5—6 dungi mai închise la culoare), în timp ce masculul prezintă 5 inele abdominale (în total 3 dungi mai închise la culoare, cîte o dungă pe inelele 1 și 2 în zona terminală și o zonă lată terminală, cuprinzînd inelele 4 și 5 în totalitate).

Adulții controlați se introduc în borcanul de cultură și se observă cîteva minute pînă la ieșirea de sub anestezie și revenirea la starea normală fiziologic. În cazul morții accidentale a unor adulți se suplimentează lotul cu numărul respectiv. Cultura astfel realizată se păstrează la temperatura camerii (20—25° C). Se urmărește pe parcursul a 2—3 zile împerecherea indivizilor și depunerea de ouă de către femele în mediul nutritiv. Adulții sînt apoi eliminați prin deschiderea capacului de tifon.

După 3 zile se repetă lucrarea realizîndu-se o nouă fază de depuneri de ouă pe parcursul a altor două zile. În acest fel s-a scurs un interval de zece zile de la prima la ultima operație.

$$t = 2\ (3 + 2) = 10 \text{ zile.}$$

În condiții normale la circa 20° C, durata de viață a unei generații este de 15 zile, iar la 26° C de 10 zile. Prin *durata de viață* se înțelege intervalul de timp de la depunerea oului pînă cînd adultul respectiv se împerechează și, dacă este femelă depune prima pontă. Cultura realizată posedă două generații de indivizi. *Generația* este definită drept grupul de indivizi ai unei populații care au aproximativ aceeași vîrstă. De fapt a doua generație este suplimentară, nefiind descendența primei generații.

La temperatura 20—25° C, la circa 1—5 zile după terminarea celei de a doua operații se obțin primii adulți. În acest stadiu se trece la numărarea indivizilor din cultură și la estimarea piramidei vîrstelor pentru populația studiată.

Ciclul de viață reprezintă succesiunea tuturor stadiilor individuale de dezvoltare de la ou pînă la depunerea de ouă. Stadiile de dezvoltare se recunosc

Scanned with OKEN Scanner

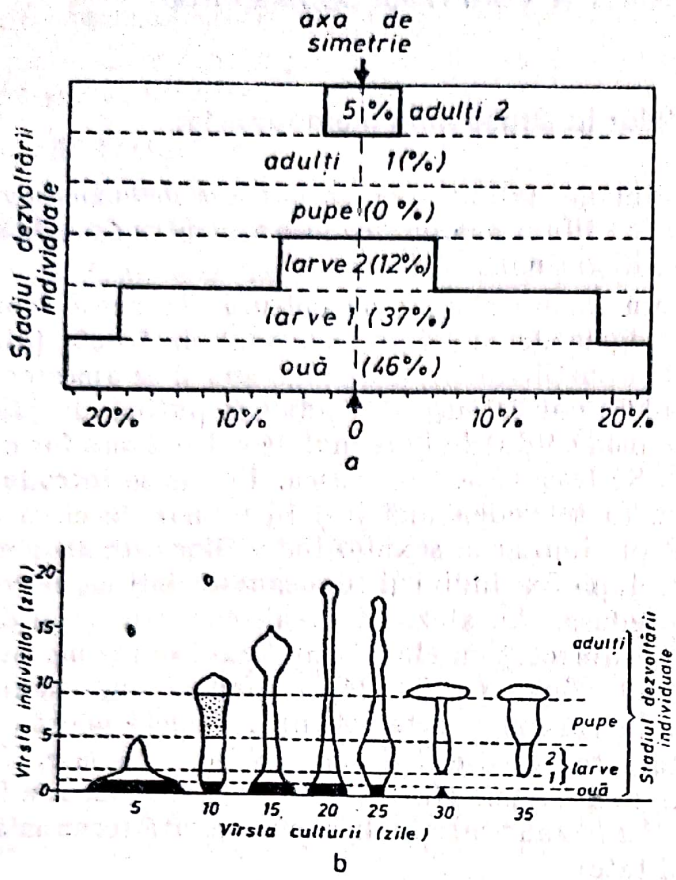


Figura 42. Drosophila melanogaster :
a — piramida procentuală a vîrstelor ; *b* — dinamica piramidei vîrstelor.

pe baze morfologice. La drosofila există aproximativ șase stadii : ou, trei stadii larvare, stadiul de pupă și două stadii de imago (adult). În stadiul de imago tînăr, drosofila este foarte lungă dacă se măsoară nu numai corpul ci și aripile în poziție de repaus. Corpul este deschis la culoare. Al doilea stadiu de imago prezintă caractere opuse (corpul mai scurt, culori mai închise).

Mai multe stadii de dezvoltare se pot reuni într-o *vîrstă ecologică*, noțiune dată de către ecologul german B o d e n h e i m e r (1938), prin care se înțelege intervalul de timp din viața unui individ desemnat în funcție de participarea sa la reproducere. Se menționează trei vîrste ecologice (fig. 42) : prereproductivă (perioadă de creștere, reproducere nulă), reproductivă (maximul reproductiv) și postreproductivă (încetarea reproducerii). La drosofila se pot recunoaște, cu mijloace modeste de cercetare, două vîrste ecologice : prereproductivă, reunind stadiile de ou, larvă, pupă, și reproductivă (imago). În general perioada postreproductivă este scurtă și necesită o analiză de detaliu a stadiului doi imago.

În cultură s-au introdus două generații (una normală, a doua suplimentară*), ceea ce permite, datorită variabilității ritmului individual de dezvoltare, suprapunerea lor parțială în timp, pentru unele stadii de dezvoltare. Indivizii cu ritm rapid de dezvoltare din generația suplimentară pot ajunge la același stadiu de dezvoltare cu indivizii caracterizați prin ritm lent din generația normală. Includerea generației suplimentare în populația experimentală s-a realizat tocmai cu acest scop pentru a se crea o structură complexă din punctul de vedere al vîrstelor. Populațiile naturale realizează astfel o complexitate prin mecanismul de acumulare a unor decalaje treptate, pe parcursul mai multor generații, între indivizii cu ritm lent și rapid de dezvoltare. În ecologie totalitatea indivizilor care au atins fie aceeași vîrstă, fie același stadiu de dezvoltare, indiferent de generația de proveniență, formează o *cohortă*.

Lucrarea de laborator de studiere a piramidei vîrstelor la drosofila se realizează prin înregistrarea numărului tuturor ouălelor, larvelor, pupelor

* O notăm ca suplimentară întrucît nu a luat naștere din precedenta, ci din una anterioară acesteia.

Scanned with OKEN Scanner

și adulților. Reprezentarea datelor se realizează într-un sistem cartezian (o abscisă și o ordonată care se întretaie în unghi drept). Grafic, se va obține o piramidă „în trepte", fiecare „treaptă" reprezentînd un stadiu de dezvoltare. Mărimea pe ordonată a unei „trepte" poate fi constantă „(trepte egale)" sau proporțională cu durata stadiului reprezentat („trepte inegale"). Lungimea unei trepte (mărimea pe abscisă) este dată de numărul de indivizi care aparțin stadiului respectiv (fig. 42,*a*). Astfel de piramide sînt numerice. În situația înscrierii pe abscisă a proporției procentuale de indivizi se obține o formă procentuală a piramidei vîrstelor. Proporția procentuală (P) se obține, pentru fiecare stadiu de dezvoltare prin raportul între numărul de indivizi ai acestui stadiu (n_1) față de numărul total al indivizilor (N), totul înmulțit cu 100 :

$$P_i \cdot 100 \cdot \frac{n_i}{N};\ i = \text{stadiul de dezvoltare studiat.}$$

Pentru adulți prin identificarea sexului se pot cunoaște numărul de indivizi, ca și proporția celor două sexe. Reprezentarea în graficul piramidei vîrstelor se face, înscriind în spațiul stadiului de imago la stînga axei de simetrie a piramidei, numărul sau proporția procentuală a indivizilor masculi, iar la dreapta numărul indivizilor femeli.

Variante

■ *A.* Cultură cu o generație normală și una suplimentară, ca mai sus, pentru exemplificarea noțiunii de cohortă.

■ *B.* Cultură cu o singură generație (se renunță la a doua introducere de adulți pentru depunere suplimentară de ouă).

1.5.1.2. Dinamica structurii populației pe stadii de dezvoltare la Drosophila melanogaster

Materiale necesare : ca pentru lucrarea practică anterioară.

Mod de lucru : ca la *varianta B* din lucrarea anterioară, dar se realizează mai multe seturi de culturi pentru siguranță. Estimarea structurii populațiilor experimentale pe stadii de dezvoltare se efectuează la interval de cîte o săptămînă, operația repetîndu-se cel puțin odată pentru a exista două piramide, care să permită comparația. Existența a cel puțin trei momente de observații oferă posibilități de estimare a duratei medii pentru fiecare stadiu în condițiile mediului în care se experimentează. În acest scop se realizează cîte un grafic pentru fiecare stadiu, în care pe abscisă se notează timpul, iar pe ordonată numărul de indivizi observați pentru stadiul respectiv. Pentru mai multe observații se obține o curbă cu maxime și minime. Durata stadiului se poate delimita aproximativ în intervalul dintre un maximum și minimum imediat următor (v. fig. 42, *b*).

Variante :

■ *A.* Observarea unei singure culturi. Adulții se transferă de fiecare dată într-un alt borcan după indentificare. Pupele, larvele și ouăle se numără prin prelevarea mediului de cultură. Există însă riscul distrugerii de indivizi sau inhibării dezvoltării lor normale. Indivizii distruși sînt înlocuiți dintr-o cultură de rezervă. Nu se poate realiza însă o estimare a gradului de inhibare a culturii prin manipulare.

Scanned with OKEN Scanner

■ *B.* Se lucrează cu un set de culturi sincronizate. Adulţii introduşi pentru reproducere şi depunere de ouă sînt de aceeaşi vîrstă pentru toate culturile. Acest deziderat se realizează prin separarea zilnică a adulţilor din cultura mamă. Pentru tot setul de culturi experiment adulţii sînt menţinuţi două zile. Sincronizarea nu este perfectă din cauza timpului diferit între cupluri de împerechere şi depunere a pontei ca şi din cauza variabilităţii mărimii pontei. Se impune deci ca piramidele vîrstelor să fie reprezentate procentual.

Numărul culturilor dintr-un set va fi egal cu numărul repetiţiilor. Este recomandabil a se realiza trei seturi paralele ceea ce permite eliminarea parţială a unor erori individuale după calculul mediei pentru fiecare observaţie.

1.5.1.3. Structura trofică a biocenozei

Materiale necesare : ciorpac, probe din fital (Prin fital se înţelege asociaţia de plante acvatice, macroscopice, emerse şi submerse împreună cu microorganismele şi animalele care trăiesc în vegetaţie.), conservate în formol 4%, balanţă, lupe 5x, pense, sticle de ceas, tuburi de sticlă, borcane dop rodat (500 ml).

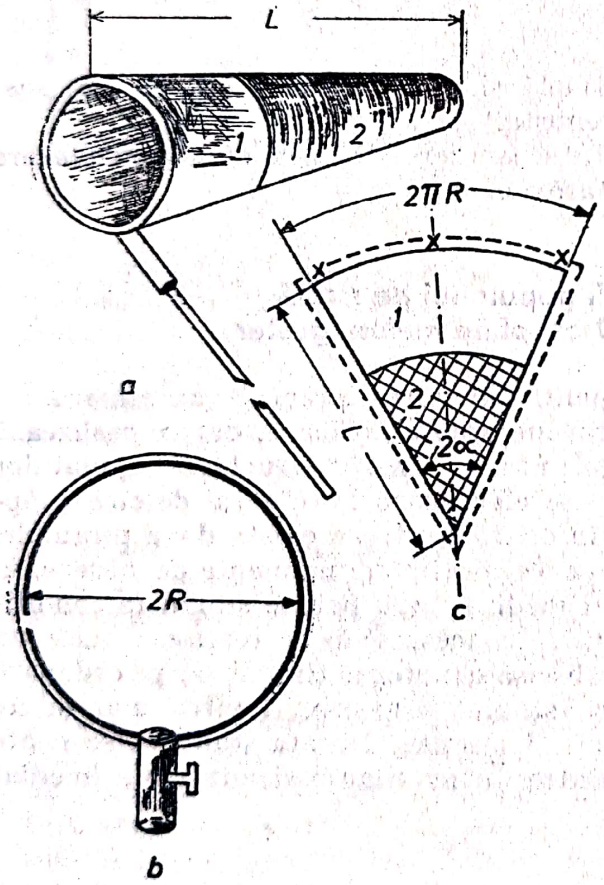


Figura 43. Ciorpac pentru probe acvatice :
a — privire generală ; *b* — inel metalic cu suportul pentru baston ; *c* — pînză desfăşurată înainte de a fi cusută ; *1* — pînză de bumbac ; *2* — pînză cu ochiuri mici (sub 0,5 cm) ; $\alpha = 180\ R/L$; cu linie întreruptă=conturul mărit în afară cu 2 cm (margine pentru cusut) ; x=conturul în dreptul inelului se măreşte cu 4 cm.

Mod de lucru. Lucrarea de laborator se realizează pe baza probelor colectate în prealabil din fitalul unui lac.

Pentru colectare se utilizează ciorpacul (fig. 43). Acesta este format dintr-un inel de metal avînd un diametru de 20—30 cm, prins de un baston cu care se va mînui. Pe inel se coase un con de pînză deasă. Cu ajutorul ciorpacului se colectează, din diferite părţi ale unui lac, cîte o cantitate de plante submerse. Materialul se introduce în borcane de 500 ml cu dop rodat împreună cu formol 4%. În fiecare borcan se introduce o etichetă cu numărul probei şi data. În caietul de teren se notează la numărul probei, locul de colectare, adîncimea, temperatura apei, data, alte observaţii specifice.

În laborator, probele se triază. Procesul decurge prin prelevarea unei cantităţi mici de material vegetal din borcan, fără a umple sticla de ceas. La lupă se observă animalele existente, fiind extrase cu penseta şi introduse în tuburi.

Scanned with OKEN Scanner

Fiecărui grup de organisme i se rezervă un tub în care animalele respective se introduc pe măsura depistării lor în vegetație. Tuburile sînt umplute de la început cu formol 4%, pentru fiecare existînd o etichetă în care sînt indicate: numărul probei și numele grupului. Triajul se realizează prin observarea treptată a întregului material vegetal cu separarea din acesta a animalelor și introducerea lor în tuburile corespunzătoare grupului sistematic.

Determinarea organismelor animale se va realiza, utilizînd pe lîngă alte lucrări și lucrarea lui E. Chiriac și M. Udrescu: „Ghidul naturalistului în lumea apelor dulci".

Nevertebratele separate din materialul vegetal se pot încadra în două *nivele trofice*: consumatori primari (C_1) și secundari (C_2). Plantele verzi submerse colectate formează producătorii primari (P_1).

Producătorii primari sînt organisme autotrofe capabile să sintetizeze din dioxid de carbon, apă și săruri minerale, substanțe organice — în procesul fotosintezei — în care se înmagazinează energie provenită din radiația luminoasă.

Consumatorii sînt organisme heterotrofe incapabile de sinteza substanțelor organice din componentele minerale. Ei sînt tributari, direct sau indirect, producătorilor primari avînd capacitatea de a utiliza energia stocată de aceștia în substanțele organice sintetizate. Consumatorii pot fi primari, secundari, terțiari etc.

— Consumatorii primari sînt reprezentați prin organisme heterotrofe (animale sau plante) care se hrănesc cu materie vegetală. Cei mai des întîlniți reprezentanți macroscopici din fital ai acestei specializări trofice aparțin viermilor oligocheți (de exemplu, *Stylaria*), gasteropodelor (ex. *Lymnaea*, *Radix*, *Physa*, *Planorbis*, *Viviparus* etc.), crustaceilor amfipozi, larvelor de diptere (*Ceratopogonidae*, *Cylindrotomidae*, *Chironomidae*), larvelor de trichoptere etc.

— Consumatorii secundari sînt organisme heterotrofe carnivore. Pentru animalele din fital se pot cita următorii reprezentanți mai frecvenți: *Hydra*, arahnidele (*Argyroneta*, hidracarienii), larvele de odonate și efemeroptere, adulții de hemiptere (*Nepa*, *Ranatra*, *Naucoris*, *Notonecta* etc.), larvele și adulții de coleoptere ditiscide.

După separarea și identificarea organismelor animale, se trece la operația de cîntărit. Ea se realizează separat pentru materialul vegetal, consumatorii primari și consumatorii secundari. Se utilizează o balanță de laborator cu sensibilitate de 0,01 g sau mai mică (balanță analitică cu călăreți). În mod frecvent o probă dintr-un borcan de 500 ml este formată din cîteva sute de grame (2—300) material vegetal, 10—20 g consumatori primari (valoarea acestora crește mult în cazul prezenței gasteropodelor), cîteva grame sau zecimi de gram pentru consumatorii secundari.

Rezultatele obținute se înscriu grafic sub forma unei piramide trofice în trepte (fig.44). Cele trei nivele trofice identificate vor forma tot atîtea trepte.

Pe abscisă se notează *biomasa* în grame sau proporția procentuală pentru fiecare nivel. Nivelele trofice ale piramidei sînt centrate în raport cu un ax de simetrie perpendicular pe abscisă, care permite ca reprezentarea să fie simetrică și să se obțină un grafic în formă de piramidă.

Scanned with OKEN Scanner

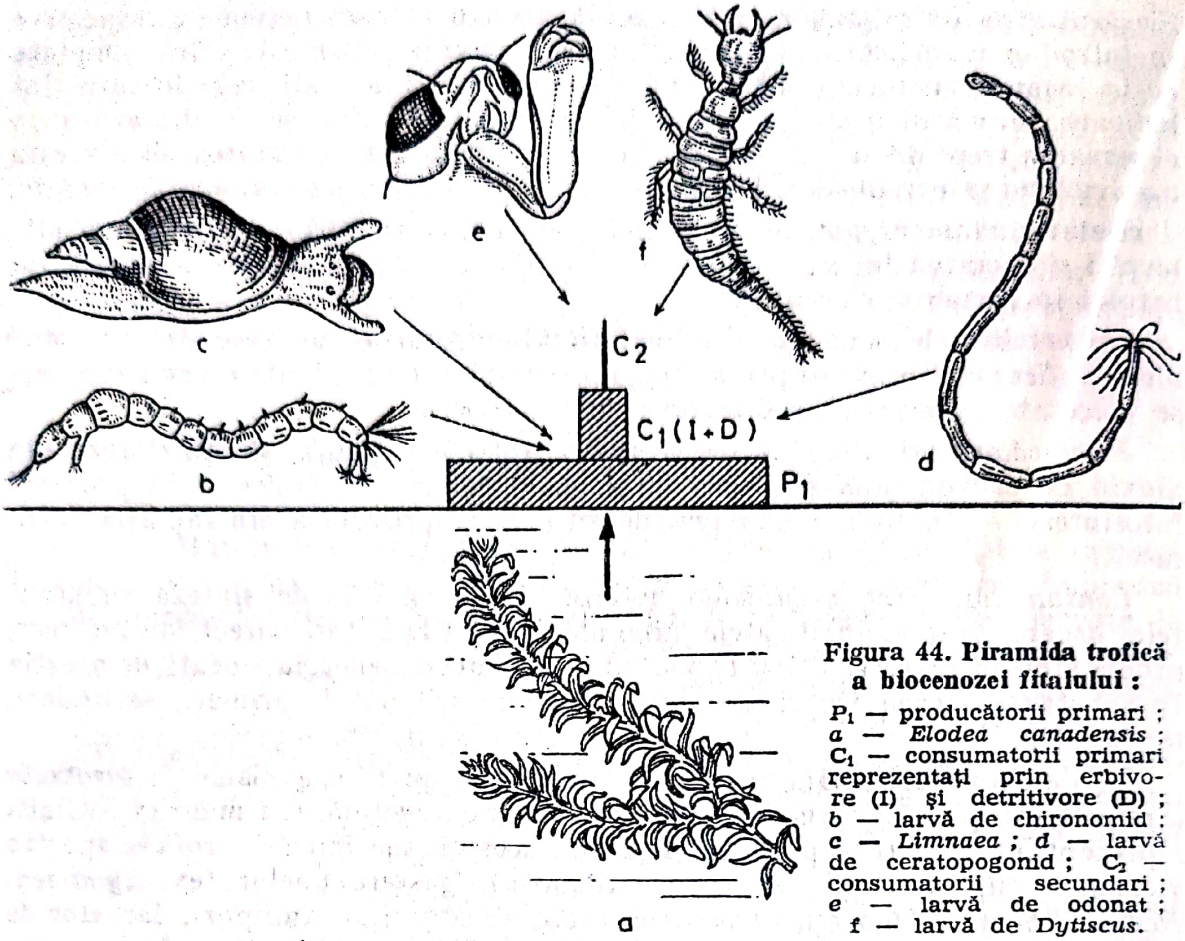


Figura 44. Piramida trofică a biocenozei fitalului :
P_1 — producătorii primari ; *a* — *Elodea canadensis* ; C_1 — consumatorii primari reprezentați prin erbivore (I) și detritivore (D) ; *b* — larvă de chironomid ; *c* — *Limnaea* ; *d* — larvă de ceratopogonid ; C_2 — consumatorii secundari ; *e* — larvă de odonat ; *f* — larvă de *Dytiscus*.

În situația cînd s-au prelevat mai multe probe din compartimente sau asociații macrofitice diferite ale lacului se vor obține mai multe reprezentări. Ele vor fi utilizate în cadrul unei analize comparative care va oferi posibilitatea înțelegerii diversității biocenozei în spațiu. Se vor studia comparativ și valorile factorilor abiotici înregistrați, cît și componența specifică a nivelelor trofice. Se va calcula de asemenea valoarea medie cantitativă a întregului lot de probe care va oferi o imagine de ansamblu asupra arealului cercetat.

1.5.2. Funcționalitatea ecologică a sistemului populațional și biocenotic

1.5.2.1. Modelarea Schwerdtfeger a reglării numerice în populație prin factori abiotici, independenți de densitate

Materiale necesare : set de 20 bile negre și 19 bile albe (sau alt cuplu de culori), o cutie suficient de lungă pentru a cuprinde toate bilele într-un singur șir pe o latură, creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Cele 39 de bile se introduc în cutie. Se închide capacul și se mișcă cutia circular pentru a permite bilelor să se amestece. Se apleacă

Scanned with OKEN Scanner

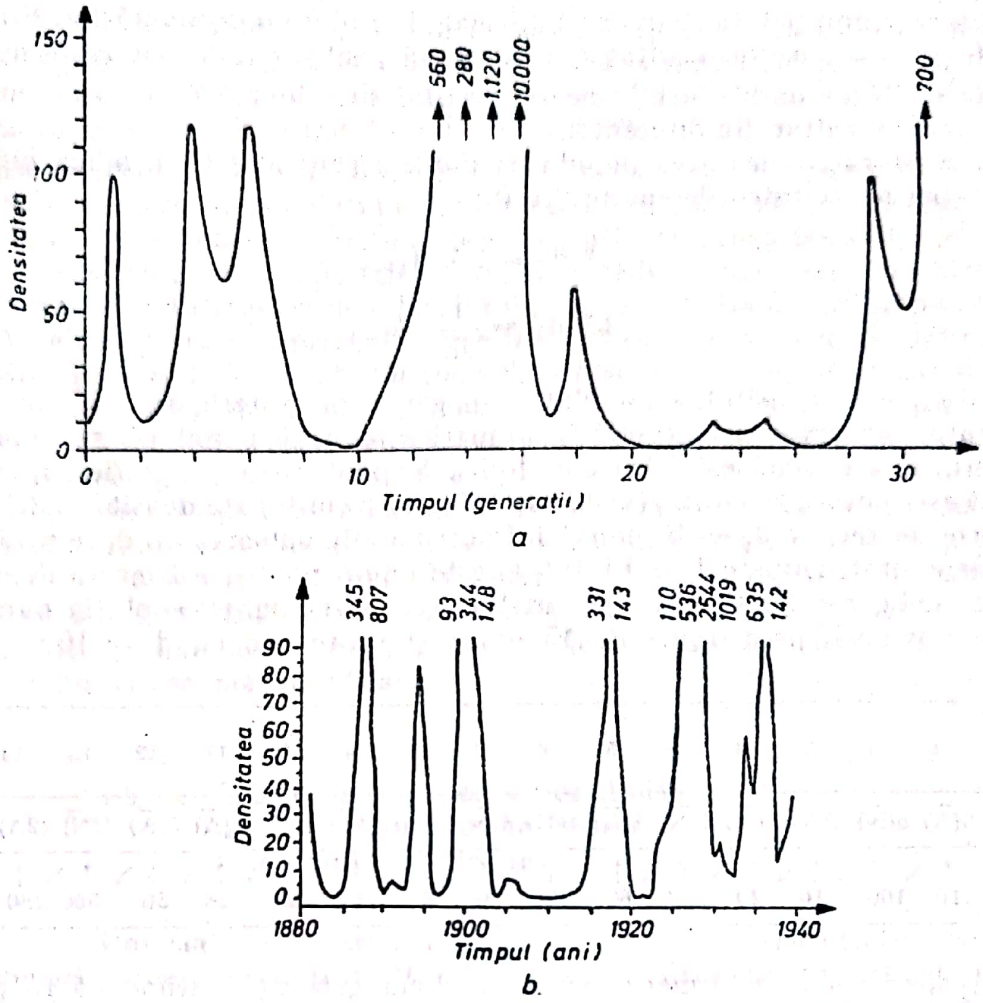


Figura 45. Evoluția densității unei populații :
a — simulare prin procedeul Schwertfeger ; *b* — evoluția densității dăunătorului silvic *Bupalus piniarius* L., în Letzlinger Heide între 1880—1940.

cutia pe o latură, obținîndu-se un singur șir de bile a căror așezare s-a realizat întîmplător. Din capătul stîng al șirului spre dreapta se numără 19 bile din care se înregistrează cîte sînt albe (A) și cîte negre (N). Să presupunem că între aceste 19 bile 7 sînt negre și 12 albe. Făcînd diferența (Δ) se obțin 5 bile albe. Sînt posibile, în general, două situații :

$$\Delta = A - N \text{ dacă } A > N \text{ și}$$

$$\Delta = N - A \text{ dacă } N > A.$$

Se consideră că bilele negre reprezintă valori ale factorilor de mediu care produc scăderea numerică, iar bilele albe valori optime care stimulează dezvoltarea numerică a populației. Deoarece mediul abiotic este format dintr-un complex de factori care acționează în sensuri diferite, se iau în considerație numai valorile negative sau pozitive care rezultă după anihilarea reciprocă a acțiunii majorității factorilor. Pentru modelarea citată se ține seama numai de bilele ce rezultă prin diferență (Δ). În acest caz, vom considera că o bilă albă, care înseamnă un factor stimulator, permite dublarea numărului de

Scanned with OKEN Scanner

indivizi ai populației, în timp ce o bilă neagră produce o înjumătățire. Numărul de bile albe sau negre rezultat din diferență poate fi însă mai mare de unu. Notăm cu $\overline{N}$ numărul de bile negre rezultat din diferență și cu $\overline{A}$ numărul de bile albe rezultat din diferență.

În acest caz, densitatea populației după o generație (d_T), adică numărul de indivizi pe unitatea de spațiu, va fi :

$$a)\ d_T = 2\overline{A} \cdot d_{T-1}$$

$$b)\ d_T = \frac{1}{2\overline{N}} \cdot d_{T-1}$$

unde d_{T-1} este densitatea populației în generația anterioară.

Pentru observarea dezvoltării numerice a unei populații se consideră că densitatea inițială este de 10 indivizi. Se realizează un grafic în care pe abscisă este notată generația (de la 1 la 100), iar pe ordonată densitatea (fig. 45). Se pornește deci cu $d_0 = 10$ indivizi. Pentru a afla valoarea lui d_1 se utilizează procedeul citat. După calculul lui d_1 el este reluat pentru estimarea densității fiecărei noi generații. Cu titlu informativ prezentăm mai jos evoluția numerică a unei populații pe parcurs de 15 generații, începînd cu $d = 10$:

Generația	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Δ	5($\overline{A}$)	5($\overline{N}$)	1($\overline{A}$)	3($\overline{A}$)	1($\overline{N}$)	1($\overline{A}$)	1($\overline{N}$)	5($\overline{N}$)	3($\overline{N}$)	1($\overline{A}$)	7($\overline{A}$)	1($\overline{A}$)	5($\overline{A}$)	1($\overline{N}$)	(2$\overline{A}$)	2($\overline{A}$)
d_T	↑ 10	↘↑ 100	↘↑ 10	↘↑ 20	↘↑ 120	↘↑ 60	↘↑ 120	↘↑ 60	↘↑ 6	↘↑ 1	↘↑ 2	↘↑ 28	↘↑ 56	↘↑ 560	↘↑ 280	↘↑ 1120

Vom analiza calculul numeric pentru a doua generație, știind că în prima generație densitatea a fost de 10 indivizi. Din amestecul bilelor albe și negre rezultă o diferență de 5 bile albe. În acest caz :

$$d_2 = 2 \cdot \overline{A} \cdot d_1 = (2 \times 10) \times 5 = 100.$$

Dacă diferența ar fi fost egală cu 5 bile negre, atunci calculul s-ar fi desfășurat astfel :

$$d_2 = \frac{1}{2\overline{N}} \cdot d_1 = \frac{10}{2 \times 5} = 1.$$

În mod similar se realizează calculul pentru fiecare generație.

Populația modelată poate înregistra două categorii critice de situații asupra cărora sînt necesare cîteva lămuriri.

a. În cazul cînd, prin jocul factorilor, rezultă densități subunitare foarte mici, calculul nu se va mai desfășura după algoritmul indicat. Se urmărește dacă pentru generația următoare diferența este reprezentată prin bile albe sau negre. Dacă se înregistrează bile negre ($\overline{N}$) atunci se consideră densitatea egală cu zero. Această valoare se menține atîtea generații cît timp se obțin diferențe $\overline{N}$. Dacă, din diferență rezultă bile albe ($\overline{A}$), atunci se consideră că se produce o repopulare a zonei realizîndu-se densitatea inițială de 10 indivizi. Se continuă apoi calculul indicat mai sus.

b. Similar se poate înregistra o creştere extraordinară a valorii densităţii. Pentru astfel de situaţii se consideră că există o limită numerică superioară la care populaţia îşi epuizează hrana revenind prin mortalitate la $d_0 = 10$. Limita superioară recomandată este de 10 000.

Prin modelarea citată, Schwerdtfeger a demonstrat în 1958 că nivelul numeric al populaţiilor de insecte dăunătoare ale pădurii este menţinut în limite acceptabile cel mai frecvent prin acţiunea factorilor climatici defavorabili. Reglarea populaţiei prin intermediul hranei este considerată a se manifesta rar. Interesant de subliniat faptul că evoluţia densităţii pe aproape o sută de ani pe care o prezintă Schwerdtfeger la insecte dăunătoare (*Dendrolimus pini* L., *Panoplis flammea* Schiff. şi *Bupalus pinatus*) este similară celei obţinute prin modelare. Se remarcă de exemplu faptul că, în ambele cazuri, nivelul numeric este menţinut la valori minime şi medii, iar frecvenţele „anilor de apariţie în masă" sînt reduse, înregistrînd valori care nu sînt semnificativ diferite faţă de cele modelate. Prin modelarea Schwerdtfeger se obţine simularea frecvenţei anilor prielnici sau neprielnici dezvoltării unor populaţii în funcţie de evoluţia climatică. În agricultură şi silvicultură sînt cunoscuţi astfel de ani favorabili sau defavorabili pentru dezvoltarea masivă a unor fitoparaziţi şi dăunători după caracteristicile evoluţiei climatice, ceea ce permite luarea de măsuri eficace.

1.5.2.2. Creşterea logistică a populaţiei de Saccharomyces cerevisiae (experienţa lui Gause)

Materiale necesare: drojdie de bere (*Saccharomyces cerevisiae*) din comerţ, cilindri gradaţi de 10 ml şi 250 ml, eprubete, pahare Erlenmeyer (50 şi 250 ml), lame, baghete sticlă, pipete simple cu pompă de cauciuc, pipete gradate de 10 ml, pîlnie de sticlă cu stativ, hîrtie de filtru, balanţă cu greutăţi, microscop, apă distilată, zahăr din comerţ, hîrtie, creion.

Mod de lucru. Sticlăria se spală bine după degresare. Se spală din nou cu apă distilată şi se sterilizează prin fierbere în apă distilată într-un vas mai mare, anterior sterilizat.

Se cîntăresc 4 g de drojdie din comerţ care se introduc într-un pahar Erlenmeyer de 250 ml împreună cu 200 ml apă distilată. Se amestecă cu o baghetă de sticlă sterilizată, avîndu-se grijă ca la scoaterea baghetei să nu rămînă bucăţi de drojdie prinsă de aceasta. Amestecul apă + drojdie de bere se fierbe o jumătate de oră pînă la o oră, menţinîndu-se nivelul apei prin adăugare de apă distilată fierbinte dintr-un alt pahar Erlenmeyer. Se lasă apoi amestecul să se răcească. Între timp se pregăteşte hîrtia de filtru, se pune în pîlnie în grosime dublă şi se umectează cu apă distilată pentru aderenţă. Amestecul drojdie-apă distilată, la temperatura camerei este filtrat, obţinîndu-se un decoct. Se măsoară volumul filtratului obţinut. La 100 ml filtrat se adaugă 5 g zahăr cîntărit în prealabil (pentru întreaga cantitate de 200 ml vor fi necesare 10 g de zahăr). După dizolvarea zahărului filtratul este fiert 20—30 minute cu menţinerea constantă a nivelului. Soluţia obţinută este un mediu nutritiv potrivit pentru *Saccharomyces cerevisiae*.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru obținerea unei culturi de *Saccharomyces cerevisiae* în scopul realizării experienței propriu-zise se pregătește un filtrat ca mai sus, care se introduce într-un vas steril (Erlenmeyer 50 ml) împreună cu drojdie proaspătă din comerț. Vasul se păstrează la temperatură constantă circa 25—26°C. După 2—3 zile se iau cîteva picături din cultură, se pun pe o lamelă și se observă la microscop. În cultură trebuie să se găsească celule de *Saccharomyces cerevisiae* în cantitate destul de mare, multe dintre ele prezentînd procesul de înmugurire. Dacă nu se observă celule înmugurite se însămînțează cu material nou un alt mediu de cultură. Se recomandă pentru evitarea unor eșecuri, însămînțarea simultană a mai multor medii de cultură cu drojdie de bere de proveniențe diferite. În general culturi nereușite se obțin rar.

Pentru estimarea numărului de indivizi care vor fi introduși inițial, ca și pentru estimările ulterioare, se va realiza calibrarea volumului pieptelor cu pompa de cauciuc. Se pot utiliza piepte din comerț (cu tub din sticlă nu din plastic) sau tuburi efilate dotate la capătul opus cu o pompă simplă de cauciuc de la pipete banale. Este bine ca pe tot parcursul experienței să se lucreze cu o singură pipetă, dar vor fi calibrate mai multe. Pentru calibrare se aspiră apă în pipetă. Această apă este apoi golită treptat într-un cilindru gradat de 10 ml, umplîndu-se exact un interval între două sau mai multe gradații subunitare (mai mici de 1 ml) fără a se adăuga alt volum de apă în pipetă. Se numără totodată picăturile utilizate. Calculul se realizează astfel :

$$\text{dacă la } L \text{ ml } \ldots \; p \text{ picături}$$

$$X \text{ ml } \ldots \; 1 \text{ picătură}$$

$$x = \frac{L}{p} \text{ ml/picătură.}$$

Pentru estimarea numărului de indivizi este suficientă o picătură din cultură (sau mai multe dacă aceasta are un volum prea mic), care se pune pe lamă și se acoperă cu lamela încît lichidul să se repartizeze omogen și să nu depășească marginile lamelei.

Se calculează suprafața lamelei prin măsurarea laturilor. Notăm această suprafață cu S, numărul de picături din cultură repartizat sub lamelă cu p, iar volumul unei picături cu v.

Pentru fiecare estimare cantitativă a culturilor se vor păstra aceleași valori : numărul de picături (p), volumul unei picături (v), ca și suprafața lamelei (S). Lamelele trebuie păstrate aceleași (eventual chiar aceeași lamelă) pentru că prezintă nu numai o anumită suprafață ci și o greutate caracteristică, exercitînd o anumită presiune asupra lichidului căruia îi produce repartiția, pentru volumul vp, în suprafața S, menținînd o înălțime specifică a stratului de lichid. Există două posibilități de estimare a numărului de indivizi.

a. În cazul cel mai simplu se păstrează riguros condițiile de lucru citate (S, v, p) în toate analizele. De fiecare dată se numără celulele de drojdie din 5 cîmpuri microscopice pentru o probă (caracteristicile S, v, p) și se face media. Densitatea se va raporta la suprafața cîmpului microscopic, care rămîne necunoscută. Evident se va lucra cu același microscop și cu aceeași putere de mărire (ocular, obiectiv).

b. Cu oarecare îndemînare se poate realiza estimarea suprafeței cîmpului microscopic (o). Cunoscînd dimensiunea laturii lamelei (înscrisă pe cutie sau măsurată) se va aproxima de cîte ori aceasta cuprinde diametrul cîmpului

Scanned with OKEN Scanner

microscopului. Se impune însă o mînă și un ochi experimentat. Latura unei lamele este parcursă cu cîmpul microscopic. Se repetă operația de un număr cît mai mare de ori și se calculează media, reprezentînd diametrul. Suprafața *O* se calculează după ecuația :

$$O = \pi R^2,$$

R = raza cîmpului ; ea este jumătatea diametrului măsurat cu micrometrul obiectiv. Acest instrument se prezintă ca o lamă de sticlă, avînd marcat în centru un mm linear împărțit într-o sută de subdiviziuni.

Volumul lichidului (*V*) din cîmpul microscopic de suprafață *O* se calculează astfel :

S mm^2 ..... vp ml

O mm^2 ..... V ml

$$V = \frac{O \times vp}{S} \text{ ml.}$$

Densitatea populației de *Saccharomyces* se exprimă la 10 ml (1 cm^3) prin regula de trei simple :

V ml ..... n indivizi

10 ml ..... d indivizi

$$d = \frac{10n}{V} \text{ indivizi/cm}^3.$$

Cunoscînd aceste date legate de tehnica de lucru se poate realiza experiența propriu-zisă.

Un număr de 5—10 pahare Erlenmeyer de 50 ml, conținînd cîte 10 cm^3 mediu de cultură, se vor însămînța steril cu un număr egal de indivizi de *Saccharomyces*. În acest scop, cultura inițială este omogenizată cu o baghetă sterilă și se calculează densitatea existentă prin metoda de mai sus. Pentru însămînțare este necesară aproximativ o picătură din cultura mamă aflată în a 3-a zi de existență la o temperatură de 25—26°C. Cu aceeași pipetă se realizează însămînțarea tuturor mediilor de cultură, avînd grijă ca, după fiecare operație, pipeta să fie spălată în apă distilată și apa eliminată în totalitate. Eprubetele cu mediul de cultură (reprezentînd 10 cm^3 soluție nutritivă), însămînțate în modul citat, vor fi păstrate la temperaturi pozitive de 25—26°C. Zilnic sau de două ori pe zi (la 12 ore) se va estima numărul de indivizi. În condițiile citate se va observa o creștere a densității populației cu un ritm tot mai rapid în primele 24 ore, ritmul micșorîndu-se în ziua următoare încît aproximativ din a treia zi nivelul numeric va fi staționar. Observațiile din a patra zi vor indica scăderi treptate ale numărului de indivizi datorate consumului cantității de zahăr din soluție și intoxicării treptate a culturii cu produși de dezasimilație. *Saccharomyces cerevisiae* produce alcool etilic, în urma fermentației zahărului. Introducerea unui volum egal de soluție nutritivă sterilă cu o concentrație egală a zahărului va permite observarea faptului că populația, în următoarele trei zile, va crește, dar nu se va dubla numeric. Deși dispune de cantități noi de hrană, creșterea numerică va atinge valori comparativ mai scăzute din cauza alcoolului etilic, care inhibă desfășurarea normală a proceselor fiziologice individuale.

Scanned with OKEN Scanner

O altă formă a experienței se poate realiza prin însămînțarea cu același număr de indivizi a unor medii de cultură egale ca volum, dar cu concentrații diferite: 5%, 10%, 15% zahăr. Se va observa sporirea nivelului numeric atins de aproximativ atîtea ori de cîte ori soluția este mai concentrată față de martor (a nu se depăși concentrații de 15%). În același timp durata atingerii valorii plafon de către populație va fi mai mare, sporind riscul intoxicării mai rapide a culturii prin produși de dezasimilație. Populația va înregistra în acest caz valori numerice ceva mai mici decît cele așteptate.

Dacă există o cantitate constantă de hrană, iar mediul nu se impurifică cu toxine, o populație de organisme unicelulare se dezvoltă numeric pînă la o valoare maximă (K), care nu mai este depășită. Valoarea K exprimă capacitatea mediului de a întreține populația respectivă prin hrana existentă, acest nivel neputînd fi depășit din cauza mortalității prin înfometare. Nivelul K este menținut un număr mare de generații, în condițiile absenței substanțelor toxice, și a păstrării constante a cantității inițiale de hrană. Există, cu toate acestea variații numerice de o parte și de alta a valorii K, deoarece indivizii care mor nu sînt înlocuiți exact în același timp și exact cu același număr de indivizi noi. La populațiile de plante și animale pluricelulare, principiul creșterii logistice este doar teoretic respectat, existînd mari variații datorită manifestării mai multor stadii de dezvoltare individuală cu diferențe atît metabolic, cît și ca cerințe ecologice.

Datele obținute experimental se înscriu grafic pe hîrtie milimetrică, marcînd pe abscisă timpul (t) în ore, iar pe ordonată densitatea (d) în indivizi pe cîmp microscopic sau indivizi la cm³ (fig. 46). Ecuația generală a curbei logistice este următoarea:

$$d = \frac{K}{1 + e^{a-bt}}$$

e este baza logaritmilor naturali (2,71828...), iar a și b sînt două constante specifice populației care trebuie calculate.

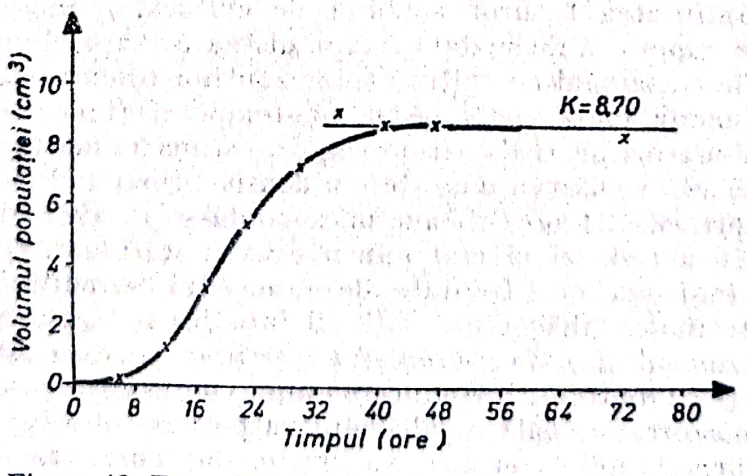


Figura 46. Exemplu de evoluție logistică a populației de *Saccharomyces cerevisiae* într-un volum definit (10 cm³) de soluție de zahăr (experiența lui Gause, 1932). Efectivul populației este reprezentat prin volumul total al celulelor.

Scanned with OKEN Scanner

În acest scop se vor folosi valorile lui d și t din prima zi ($t = 0$, d = densitatea de însămînțare), din a doua zi și a treia zi. Astfel :

$$a = \ln\left(\frac{K - d_1}{d_1}\right);$$

$$b = \frac{1}{t_2} \times \ln \frac{d_2(K - d_1)}{d_1(K - d_2)};$$

$$K_1 = \frac{2d_1d_2d_3 - d_2^2(d_1 + d_2)}{d_1d_3 - d_2^2}.$$

În calcul, ln reprezintă logaritmii naturali (în baza e) a numărului respectiv. Calculul necunoscutelor se realizează numai dacă se respectă dezideratul citat : valorile alese ale densității să se situieze echidistant în timp ($t_1 = 0$, $t_2 = 1$, $t_3 = 2$), prima corespunzînd lui $t_1 = 0$.

1.5.2.3. Evidențierea procesului reglării numerice populaționale prin concurență intraspecifică*

Materiale necesare : cutii de plastic (folosite în comerț cu ambalaje de înghețată), cariopse de grîu sau porumb, pămînt de grădină, cîntar, cilindru gradat (10 cm³), hîrtie de filtru, capsule Petri, pense, lupe (5x), hîrtie creion.

Mod de lucru. Se va urmări determinarea densității optime la plantulele de cereale (la grîu sau porumb). În acest scop în capsule Petri pe rondele de hîrtie de filtru umectate, se așază cariopse de grîu, normale morfologic (verificate anterior la lupă). După cîteva zile cariopsele vor germina. În tot acest interval hîrtia de filtru se menține cu umiditate constantă. Este necesar a se obține circa 550 de cariopse germinate.

Se va procura pămînt de grădină din care se vor înlătura toate părțile vegetale vizibile (bucăți de crengi, rădăcini, frunze etc.), obținîndu-se un omogen de cultură. Se umple o cutie de plastic cu pămînt pînă la nivelul superior apoi cantitatea respectivă de pămînt se cîntărește. În fiecare cutie se va introduce astfel o cantitate egală de mediu nutritiv. Pentru experiență se vor pregăti 70 de cutii cu sol. Numărul acesta se poate recalcula în funcție de datele de mai jos.

În cutii se vor planta cariopse germinate, realizîndu-se următoarele cinci seturi cu densități diferite :

set 1 — cutii cu 1 cariopsă germinată — 30 ;
set 2 — cutii cu 5 cariopse germinate — 10 ;
set 3 — cutii cu 10 cariopse germinate — 10 ;
set 4 — cutii cu 15 cariopse germinate — 10 ;
set 5 — cutii cu 20 cariopse germinate — 10.

total = 70 cutii

* Lucrarea practică originală M. Tufescu.

Scanned with OKEN Scanner

În lipsă de spațiu și materiale se poate înjumătăți numărul de cutii (15, 5, 5, 5, 5). Oricum se impune a se păstra un număr suficient de mare de cutii pentru setul cu o cariopsă deoarece este posibil ca, printr-o mînuire greșită la plantare să se producă distrucția vîrfurilor de creștere. În toate cazurile se pot obține valori accidentale ceea ce necesită un set de experiențe pentru fiecare variantă în scopul calculului unei valori medii.

Cariopsele germinate în cutiile cu densități supraunitare (set 2—5) se vor planta la distanțe egale. Cutiile se vor plasa pe o masă în condiții similare de lumină. Pentru a se evita rezultate accidentale din această cauză se va realiza o distribuție randomizată, adică o așezare întîmplătoare a cutiilor pe masă. Există modalități diferite de randomizare. Ne vom opri însă la sistemul cel mai simplu pentru experimentul citat, care nu necesită cunoștințe speciale de matematică. Menținînd raportul între seturi de 3 : 1 : 1 : 1 : 1, ca număr de cutii, rezultă că acestea s-ar putea aranja într-un spațiu dreptunghiular cu rînduri de 7 cutii și coloane de 10 cutii ($7 \times 10 = 70$). Știind că setul 1 are 3 cutii într-o coloană, iar celelalte seturi cîte una, problema care se pune este de a aranja numerele 1, 2, 3, 4, 5 (reprezentînd numărul setului) astfel încît să nu fie alături același număr de două ori. În tabelul de mai jos prezentăm un caz posibil de distribuire a cutiilor respectînd condiția indicată :

1	2	2	4	1	5	1	4	1	5
2	1	4	1	5	1	3	1	5	1
1	3	1	5	1	4	1	5	1	3
3	1	5	1	2	1	4	1	2	3
1	4	1	2	3	1	5	2	3	1
4	5	1	3	1	2	1	3	1	4
5	1	2	1	4	3	2	1	4	1

Se observă că distribuția obținută rezultă din completarea pe o coloană a numerelor de la 1 la 5, repetînd cifra 1 de trei ori în așa fel încît să nu se afle în căsuțe succesive. După alcătuirea primei coloane regula se respectă în continuare, fiind permise cel mult trei excepții.

Cititorul poate apela și la altă modalitate de obținerea unui model randomic de distribuție. Se decupează 70 de bilete egale (sau un număr corespunzător cutiilor) și se înscrie pe fiecare cîte un set de cifre, reprezentînd numărul setului (de la 1 la 5) repetat de cîte ori este nevoie. Se amestecă într-o cutie și se extrage cîte un bilet. Cifrele se vor înscrie în ordinea extragerii, completînd de sus în jos și de la dreapta la stînga toate rîndurile.

Experiența se menține pe parcursul a circa 3 săptămîni. Fiecare cutie este etichetată, avînd marcat numărul inițial de cariopse germinate. Zilnic în fiecare cutie se introduce o cantitate constantă de apă. În acest scop se obține prin tatonări, volumul de apă necesar unei bune umectări a solului fără suprahidratare. Încercările se fac pe cutii cu sol care nu intră în experiment.

Scanned with OKEN Scanner

După circa 3 săptămîni se notează pentru fiecare cutie numărul de plantule existente în bune condiţiuni morfologice. Proporţia supravieţuitorilor (P) se obţine prin raportul între densitatea la sfîrşitul acestui interval (d_t) şi densitatea iniţială (d_0) ($d_0 > d_t$).

$$P = d_t/d_0.$$

Valoarea lui P în funcţie de d_0 se reprezintă într-un sistem cartezian de axe (fig. 47), obţinîndu-se un grafic alcătuit din două compartimente : A şi B.

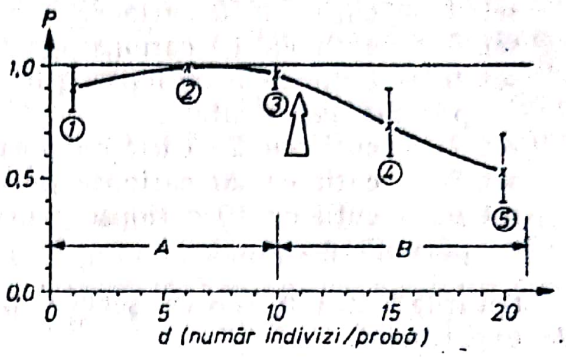


Figura 47. Proporţia de supravieţuitoari (P) în funcţie de densitate (d). Săgeata indică densitatea maximă obţinută în experiment ; cifrele încercuite indică varianta experimentală ; A — B, explicaţii în text.

Partea A a graficului este de forma unei drepte mai mult sau mai puţin paralelă cu abscisa, aflată în zona valorilor $P = 0{,}9 — 1{,}0$. Teoretic ar trebui ca această parte a graficului să fie o dreaptă suprapusă pe valoarea $P = 1$. Existenţa unor date accidentale modifică parţial nivelul numeric. În ansamblu însă nivelul apropiat de 1 şi paralelismul la abscisă exprimă manifestarea unei supravieţuiri aproximativ de 100%, deci lipsa acţiunii de eliminare a indivizilor prin concurenţă intraspecifică.

Partea B a graficului este descendentă, exprimînd descreşterea rapidă a proporţiei supravieţuitorilor la densităţi sporite.

Din analiza graficului citat rezultă faptul că densităţiile aflate în zona A sînt mai mici decît cea maximă (K), în timp ce densităţiile din zona B sînt egale sau mai mari.

Densitatea maximă se obţine prin estimarea mediei supravieţuitorilor pentru seturile de cutii din zona B.

O b s e r v a ţ i e. În graficul din figura 47 pentru setul de experienţe 1 şi 3 s-au obţinut accidental valori P mai mici decît cele reale.

1.5.2.4. Evidenţierea procesului reglării numerice prin concurenţă inter- şi intraspecifică*

Materiale necesare : ca la lucrarea anterioară, dar utilizînd cariopse germinate de grîu şi de porumb.

Mod de lucru. Ca şi în experienţa precedentă se realizează seturi de cutii cu mediu nutritiv, avînd densităţi diferite de cariopse germinate. Se vor realiza seturi paralele de cutii cu cariopse din aceeaşi specie şi cutii cu ambele specii. Astfel :

set 1 — cutii cu 2 cariopse porumb germinate 10 ;
set 2 — cutii cu 2 cariopse grîu germinate 10 ;
set 3 — cutii cu 1 cariopsă grîu şi 1 cariopsă porumb germinate 10 ;

* Lucrare practică originală M. Tufescu.

Scanned with OKEN Scanner

set 4 — cutii cu 10 cariopse porumb germinate 10 ;
set 5 — cutii cu 10 cariopse grîu germinate 10 ;
set 6 — cutii cu 5 cariopse grîu și 5 cariopse porumb germinate 10 ;
set 7 — cutii cu 20 cariopse porumb germinate 10 ;
set 8 — cutii cu 20 cariopse porumb germinate 10 ;
set 9 — cutii cu 10 cariopse grîu și 10 cariopse porumb germinate 10.

Seturile 1, 2, 4, 5, 7, 8 vor servi ca probe martor, iar seturile 3, 6, 9 ca probe de experiment.

După trei săptămîni se observă dacă în cutiile din setul 4 și 5 există plante înlăturate prin concurență. Dacă nu, se mai amînă cîteva zile pînă la înregistrarea primelor eliminări. Experiența se încheie la această dată. Se înregistrează numărul de supraviețuitori din momentul respectiv pentru cutiile cu plantule de grîu (G_t), porumb (P_t), grîu și porumb (G'_t; P'_t). Se cunosc de asemeni valorile densităților cariopselor din cutiile cu grîu (G_0), porumb (P_0) și amestec, unde G'_0 — sînt densitățile pentru grîu și P'_0 — pentru porumb. Se vor calcula următoarele valori :

$$P = \frac{P_t}{P_0}; \quad G = \frac{G_t}{G_0};$$

$$P' = \frac{P'_t}{P'_0}; \quad G' = \frac{G_t}{G'_0};$$

$$P_s = P' - P; \; G_s = G' - G.$$

Prin G și P s-au notat proporțiile de supraviețuitori în urma acțiunii de eliminare datorate concurenței intraspecifice între plantulele de porumb (P) și respectiv între cele de grîu (G) ; cu P' și G' s-a notat proporția supraviețuitorilor în urma manifestării concurenței intra- și interspecifice asupra plantulelor de porumb (P') și grîu (G'), iar cu P_s și G_s — proporția plantulelor care au supraviețuit concurenței interspecifice manifestate asupra porumbului (P_s) și grîului (G_s).

Cele grei categorii de valori se pot reprezenta într-un grafic similar celui prezentat la lucrarea practică anterioară.

1.5.2.5. Modelarea reglării reciproce a nivelului numeric al consumatorilor primari și secundari într-o biocenoză (modelare Wisarcot)

Materiale necesare : două cutii lungi, două seturi de cîte 100 bile de culori diferite (diametrul unei bile este preferabil a fi de 0,5 mm), creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Se utilizează un set de bile albe (A) pentru a se marca indivizii pradă și un set de bile negre (N) pentru indivizii din specia prădătoare sau orice alt cuplu de seturi de bile în ceea ce privește culoarea. În afara populației fitofage (C_1 = A) și carnivore (C_2 = N) se presupune, fără a se reprezenta în modelare, o populație de producători primari (P_1). Ea este reprezentată implicit prin reguli restrictive privind dezvoltarea numerică a consumatorului

Scanned with OKEN Scanner

secundar, căruia i se impune o limită numerică superioară (de exemplu, 60) și o limită numerică inferioară (de exemplu, 10 indivizi). Pentru modelare considerăm cazul unui sistem biocenotic format din trei nivele trofice : P_1, C_1 și C_2. Îndeplinirea cerinței sistemice de autoreglare (biocenoza fiind considerată a se afla într-o situație de echilibru dinamic) impune realizarea următoarelor reguli :

1) *Regula minimului*. Numărul minim de indivizi C_1 se consideră a fi corelat cu existența hranei (datorată populației de producători primari) în suficientă măsură pentru ca nivelul consumatorilor primari (C_1) să nu scadă sub un anumit nivel numeric. Această cerință se realizează de obicei în biocenoze aflate într-o stare de echilibru dinamic ceea ce le permite menținerea lor în bune condițiuni, ca structură și funcționalitate, atîta timp cît mediul în care există nu se modifică și echilibrul nu se distruge. Practic, în cazul cînd populația pradă urmează a înregistra o valoare sub nivelul minim impus (10 indivizi) ea va fi reprezentată prin cifra limită ori de cîte ori se va realiza o astfel de situație. Nivelul minim mai mare decît zero se impune a fi păstrat pentru a se asigura continuitatea modelării ; în caz contrar există posibilitatea ca sistemul să fie distrus prin dispariția unui component (C_1).

2) *Regula maximului*. Nivelul maxim al consumatorilor primari (60 indivizi) se menține pentru a nu se ajunge la o complicare extremă a modelării prin creșterea rapidă a numărului de bile albe, reprezentînd populația C_1. Sub raport ecologic, un sistem biocenotic aflat într-o stare de echilibru dinamic își modifică componența numerică a populațiilor între limite stabilite de mecanismele autoreglării. Practic, dacă rezultă un număr mai mare decît limita impusă prin dezvoltarea numerică a acestei populații, ea se va reduce la această valoare (60). Dacă în generația următoare procesul de depășire sau de realizare a efectivului de 60 de indivizi este menținut pentru populația C_1, atunci valoarea sa va fi redusă la limita inferioară (10 indivizi). Din punct de vedere biologic reducerea numerică modelată corespunde unei scăderi forțate a numărului erbivorelor în urma consumului excesiv al hranei.

3) *Regula startului specific*. Între nivelele trofice ale biocenozei există diferențe cantitative care se concretizează prin cunoscuta regulă a piramidei numerice a lui C h. E l t o n : cu cît nivelul trofic este mai ridicat cu atît numărul de indivizi este mai redus. Regulile impuse modelării vor acționa în acest sens, realizînd treptat o configurație eltoniană a biocenozei modelate. Pentru a se elimina însă perioada, uneori lungă, a realizării unei stări de echilibru dinamic se recomandă ca însăși în faza de început să se respecte regula lui E l t o n. În mod concret se poate începe cu 20 indivizi ai populației pradă (20 bile albe) și numai cu 10 indivizi ai populației prădător reprezentată prin tot atîtea bile negre. Raportul citat între cele două nivele trofice pare a corespunde celorlalte relații numerice pe care le implică sistemul.

4) *Regula cuplurilor întîmplătoare*. Cele 20 bile albe plus 10 bile negre se introduc într-o cutie lungă. Se pune capacul și cutia se mișcă circular, realizîndu-se un amestec al bilelor. După cîteva cicluri se oprește mișcarea, iar cutia este înclinată pe o latură pentru ca bilele să se așeze într-un singur șir. Cutia, așezată pe masă, se deschide și se depistează cuplurile. Pentru aceasta se separă treptat, două cîte două, bilele începînd din partea stîngă a șirului. Pe măsură ce se separă cuplurile se citește informația ce o dețin și se traduce în numărul de descendenți realizat în generația următoare.

Scanned with OKEN Scanner

5) *Regula descendenței specifice.* În mod concret, prin amestecul întîmplător al bilelor albe (A) și negre (N), se vor realiza trei tipuri de cupluri : AA, AN, NN. Fiecare va avea o anumită semnificație în ceea ce privește numărul de descendență care se va realiza.

— Cuplul AA reprezintă întîlnirea a doi indivizi din populația fitofagă. Se consideră că cei doi indivizi sînt diferiți sexual, caz simplificat de reprezentarea realității pentru o populație cu reproducere sexuată. Este evident faptul că, pentru astfel de populații, „întîlnirile" nu se realizează numai între indivizi maturi din sexe diferite, ci între toate categoriile de indivizi care compun structura populației și care se găsesc în același mediu de viață. Simplificarea nu afectează prea mult comportamentul general a sistemului care este studiat. Se consideră că realizarea unui cuplu reproducător este urmată de realizarea unei descendențe. Prin tatonări am stabilit ca fiind favorabil pentru cazul concret citat, o natalitate de 8 descendenți la un cuplu reproducător.

— Cuplul AN reprezintă întîlnirea unui individ prădător și a unui individ pradă. Se consideră că se vor realiza două procese, ca urmare a acestei întîlniri. În mod firesc prada va fi consumată, iar prădătorul, dispunînd de această bază trofică, va supraviețui. Ulterior se consideră că individul prădător, aparținînd unei populații sexuate, se va întîlni cu un individ de sex opus, realizînd un cuplu productiv, avînd ca urmare realizarea de urmași. Procesul realizării cuplului reproductiv nu este modelat, ci numai presupus. Apare evident faptul că aceasta reprezintă o simplificare a realității care constă în faptul că toți indivizii care au supraviețuit înfometării sînt reprezentați prin forme mature, iar acestea sînt formate în părți egale din indivizi ai celor două sexe. Cu toată această simplificare modelarea nu conduce, în ansamblu, la rezultate care să infirme configurația numerică a populațiilor, fără a se ține seama de structura populațională.

Pentru modelarea propusă cuplul AN va fi înlocuit exclusiv prin bile (indivizi) N, reprezentînd urmașii. Tatonările realizate ne fac să recomandăm a se utiliza o natalitate de 4 indivizi la un cuplu reproducător. Practic un cuplu AN se va înlocui prin două bile negre, reprezentînd mărimea medie a natalității per individ, indiferent de sex.

— Cuplul NN este considerat a reprezenta întîlnirea indivizilor prădători după epuizarea hranei ceea ce are ca urmare dispariția lor prin inaniție fără a avea loc reproducerea. Apare foarte vizibil, și de data aceasta, simplificarea pe care o presupune modelarea propusă. Din punct de vedere biologic, procesul este mult mai complex. Practic, cuplul NN nu va fi înlocuit prin nici o descendență.

6) *Regula traducerii informației.* Ținînd seama de regula descendenței, se indentifică fiecare cuplu al șirului de bile din cutie. Într-o cutie goală se „traduce" informația citită prin introducerea numărului corespunzător de bile pentru fiecare cuplu identificat pînă la epuizarea șirului de bile. Se obțin astfel două configurații biocenotice decalate cu o generație, considerînd, în mod simplificat că toate populațiile sistemului sînt caracterizare prin longevități identice. În prima cutie, din care s-a „citit" mesajul se găsesc populațiile biocenozei cu o reprezentare numerică ce corespunde unui timp anterior. Numărul indivizilor este cunoscut fiind vorba fie de biocenoza din momentul de start ($t = 0$, $C_1 = 20$, iar $C_2 = 10$), fie dintr-un alt moment pentru care s-a realizat calculul. Deci, de fiecare dată se numără numai bilele celor două popu-

Scanned with OKEN Scanner

lații (C_1 și C_2) din cutia care s-a umplut, reprezentînd noua configurație numerică a biocenozei. După numărare se notează datele obținute și se eliberează prima cutie. Cutia a doua este acoperită, se amestecă bilele și se reia algoritmul citat.

Observații. Biocenoza modelată este reprezentată prin cîte o populație pentru trei nivele trofice : P_1, C_1, C_2. Populațiile se intercondiționează numeric pe această cale realizîndu-se reglajul reciproc. Populația P_1 acționează ca reglator al populației C_1 doar în situații limită, în rest considerîndu-se a fi reprezentată în mod permanent printr-un nivel numeric suficient, pentru a oferi o bază trofică îndestulătoare consumatorului. Din această cauză practic ea nu este reprezentată în modelare în mod concret, prezența ei fiind implicată prin regulile minimului și maximului. Această simplificare se poate elimina, impunînd prezența unei populații de producători primari printr-un al treilea set de bile. Foarte important este însă a se respecta și în acest caz regulile de minimă și maximă.

Explicația biologică este simplă : producătorii primari sînt limitați într-o biocenoză echilibrată nu numai prin consumatori ci și prin condiții hidrice, minerale sau de spațiu. Similar producătorii primari prezintă un nivel minim, reprezentînd situația acțiunii maxime a factorilor nefavorabili. În astfel de condiții producătorii primari, adaptați mediului respectiv de viață, nu sînt eliminați în totalitate ci numai parțial.

Ideea de bază a modelării citate aparține lui K. Williamson și P. Sheppard, fiind sugerată lui R. MacArthur și J. Connell, v. lucrarea „Biologia populațiilor", Ed. științifică, 1970. Autorii au fixat regulile de principiu ale modelării, cele pe care noi le-am numit regula cuplurilor întîmplătoare, a descendenței specifice și a traducerii informației. Modelarea MacArthur — Connell se referă numai la reglajul reciproc dintre două populații legate între ele prin relația trofică prădător-pradă. Deoarece nu sînt date repere numerice (decît în ceea ce privește diferența de natalitate), sistemul se poate dezvolta în limite foarte largi, devenind dificil de a fi mînuit prin numărul mare de bile pe care le implică. În același timp, sistemul se poate distruge, atingînd valoarea zero în situații cînd prădătorul se dezvoltă excesiv. Deoarece în natură cuplul de populații pradă-prădător este încadarat în ecosistem și asupra lui se exercită acțiunile multiple din mediu, în rare cazuri (situații limită) se realizează condiții pentru dezechilibrarea raportului dintre cele două populații pînă la eliminarea sau dezvoltarea excesivă a prădătorului.

Păstrarea echilibrată a raportului pradă-prădătăr este cunoscută din date înregistrate de literatura ecologică. Un exemplu foarte des citat de oscilații ciclice aparține ecologului canadian MacLulich (1937), prezentînd reglarea reciprocă a populațiilor de *Lepus americanus* și *Lynx canadensis*, studiată pe baza numărului de blănuri obținute de la vînătorii din nordul Canadei între anii 1845 și 1937 de către Compania Hudson Bay (fig. 48). Modelul matematic al unei astfel de evoluții a fost realizat de către cercetătorul italian Volterra (1926) ; în multe cazuri oscilațiile ciclice ale populațiilor pradă și prădător, sînt citate ca oscilații de tip Volterra.

Oscilațiile ciclice reflectă starea de echilibru dinamic a biocenozei care intervine asupra cuplului populațiilor pradă-prădător, menținîndu-le la un nivel numeric compatibil existenței acestora atîta timp cît starea biocenozei nu

Scanned with OKEN Scanner

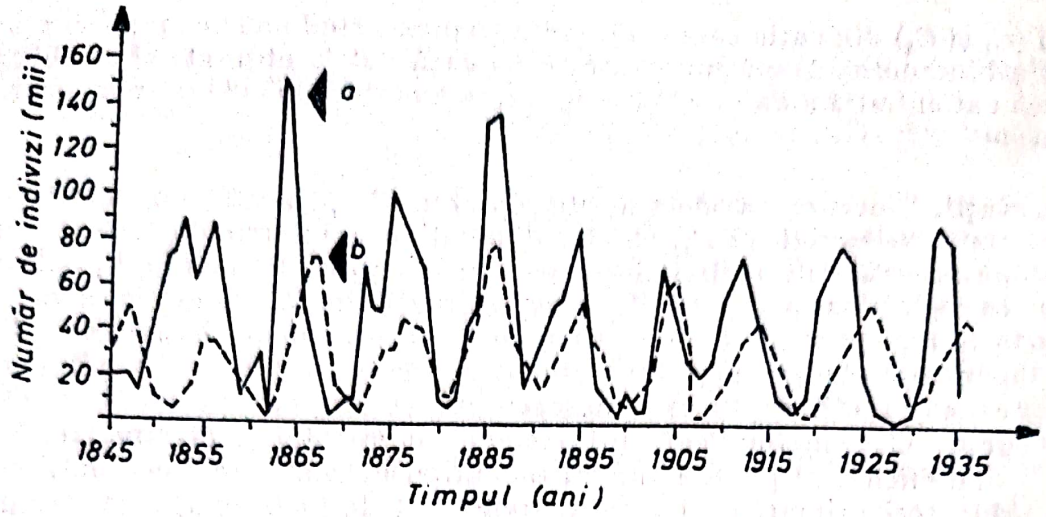
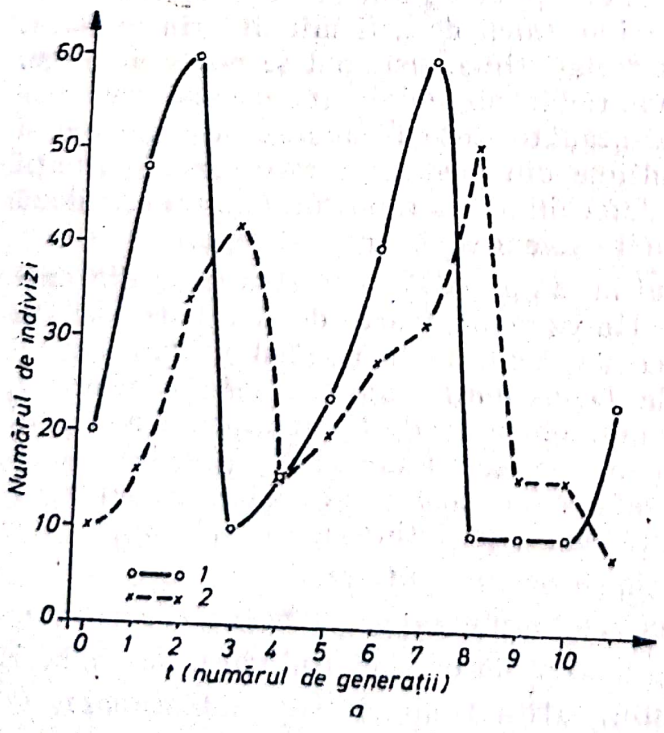


Figura 48. Exemplu de oscilații ciclice tip Volterra în evoluția populațiilor de *Lepus americanus* (*a*) ca pradă și *Lynx canadensis* (*b*) ca prădător.

este modificată. În scopul ilustrării acestui proces ca și în urma studierii amplitudinii de dezvoltare a modelului MacArthur și Connell, am introdus regulile minimului, maximului și a startului ca și valorile natalității, care permit obținerea simulării oscilațiilor de tip Volterra. Rezultatele unui caz al modelării astfel concretizate sînt prezentate în figura 49. Ea demonstrează faptul că evoluția cuplului pradă-prădător se desfășoară similar populațiilor din *Lepus americanus* și *Lynx canadensis* prezentate de către MacLulich și respectînd regulile ecuațiilor Volterra. În figura 49, *b* se observă caracterul ciclic al evoluției numerice a populațiilor simulate, acest specific atestînd starea de echilibru dinamic al sistemului. Cifrele indicate în figură marchează (în ordine de la 0 la 11) timpii evoluției.



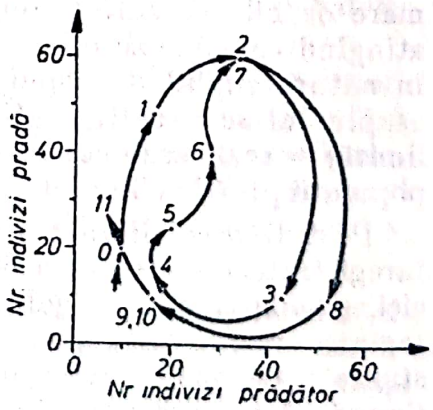


Figura 49. Reglarea numerică pradă-prădător simulată prin procedeul wisarcot :

a — oscilații numerice de tip Volterra în funcție de timp: *1* — populația pradă ; *2* — populația prădător ; *b* — oscilații numerice ale populației pradă în funcție de populația prădătorului; *0—11* = numărul generației.

Scanned with OKEN Scanner

Am numit wisarcot modelarea prezentată după inițialele autorilor care au contribuit la realizarea sa în această formă (Williamson, Sheppard, MacArthur, Connell, Tufescu).

Deși prin modelarea wisarcot se urmărește numai evoluția numerică a populațiilor pradă și prădător, în mod implicit rezultatele reflectă în ansamblu starea de echilibru dinamic a biocenozei. Acest fapt este reliefat de realizarea oscilațiilor de tip Volterra de către cuplul pradă-prădător care nu sînt compatibile cu modificări ale biocenozei inclusiv cele datorate omului (fără tulburarea echilibrului numeric dintre cele două specii).

Pentru a reprezenta situația realizării unui nou echilibru biocenotic, ilustrat prin dinamica celor două populații, este suficient a se modifica unul din următorii parametri :

— valoarea natalității pentru populația pradă (*a*) sau prădător (*b*) sau pentru ambii (*c*) ;

— limita inferioară a nivelului numeric al populației pradă ;

— limita superioară a nivelului numeric al populației pradă.

Propunem ca cititorii să realizeze astfel de exerciții, avînd ca scop identificarea timpului necesar pentru obținerea de oscilații ciclice în situația atingerii unei noi stări de echilibru dinamic.

1.5.2.6. Studiul productivității primare planctonice (metoda Winkler)

Materiale necesare : sticle cu dop rodat de 100 ml, biuretă, tub de sticlă îndoit în formă de U pentru sifoane, vase Erlenmeyer (100 ml), soluție de clorură manganoasă, soluție de iodură de potasiu în hidroxid de sodiu, acid clorhidric concentrat (fumans), soluție H_2SO_4 cu greutatea specifică de 1,831 g/cm^3, soluție de bicarbonat de potasiu 0,01 N, iodură de potasiu cristalină, soluție amidon 1%, soluție de tiosulfat de sodiu 0,01 N, acvariu, pahare Berzelius, baloane cotate de 100 ml și 1 l, densimetru pentru H_2SO_4, balanță analitică.

Mod de lucru. Prin tubul de sticlă îndoit se trage apă din acvariu. Se lasă să curgă o cantitate de apă într-un pahar Berzelius, probă care se aruncă. Probele de apă se extrag din acvariu în continuare prin sifonare, avînd grijă ca sticlele cu dop rodat să fie umplute, evitînd barbotarea.

Sticlele cu dop rodat de 100 ml au fost în prealabil calibrate exact, măsurîndu-se volumul total (pînă la dop) pentru fiecare.

Prin mutarea sifonului se pot extrage probe din diferite părți ale acvariului. De fiecare dată se iau cîte trei probe din același loc :

1) prima se va titra imediat ; ea reprezintă proba martor (*M*) ;

2) a doua se va titra după circa o oră, fiind menținută în acest timp într-o sticlă transparentă cu dop rodat (*L*) ;

3) a treia se va titra după același interval de timp ca (*L*), dar sticla în care se află este netransparentă (*N*), încît nu permite acțiunea luminii asupra probei. În comerț există sticle maronii cu dop rodat, dar cel mai bine este ca sticlele cu probe (*N*) să fie protejate printr-un strat gros de vopsea neagră.

Acvariul din care se extrag probele se impune a fi bine luminat încît să existe condiții prielnice pentru dezvoltarea unor populații de alge fotosintetizante. Fiecare dintre cele trei probe dintr-un set oferă indicații asupra unei laturi a proceselor productivității primare.

Scanned with OKEN Scanner

Prin *producție biologică* se înțelege totalitatea creșterilor individuale într-un interval de timp și într-un spațiu anumit, datorate indivizilor care au fost în viață la începutul intervalului (indiferent dacă pe parcurs au pierit) plus cele realizate de către indivizii nou-născuți cît și orice alte sporuri (secreții, pierderi de material biologic prin exuvii etc.). Într-un sistem biocenotic complet se distinge în principal o *producție primară* (datorată organismelor autotrofe) și o *producție secundară* (datorată organismelor consumatoare, indiferent de nivel trofic).

Producția se măsoară în sporuri de biomasă (reprezentînd substanța adăugată în procesul creșterii individuale) și energetice (reprezentînd cantitatea de energie adăugată prin biomasa respectivă).

În cazul producătorilor primari fotosintetizanți există și o altă posibilitate de măsurare a producției : pe baza oxigenului produs prin fotosinteză și consumat prin respirație, cantitățile respective sînt echivalente cu energia cîștigată sau pierdută în cursul procesului de către indivizii analizați.

Noțiunea de producție primară este globală, trebuind să se facă specificarea categoriilor implicate. Aceste categorii sînt : producția primară brută și producția primară netă.

Producția brută (**PB**) este definită ca fiind sporul total de biomasă și energie realizat de către populațiile de producători primari. Din punct de vedere energetic **PB** este suma cantităților de energie reprezentînd producția netă și respirația.

Producția netă (**PN**) este sporul real de biomasă și energie realizat de către populațiile de producători primari.

Prin respirație (**R**) o parte din energia stocată de către producătorii primari în cursul realizării producției brute este utilizată pentru cerințe energetice individuale.

Practic, **PB** este rata fotosintezei în unitate de timp și spațiu.

În cazul producătorilor secundari se utilizează, în mod similar, noțiunile de **PN** și **R**, iar **PB** este înlocuită prin asimilație (**A**) în sensul citat, adică cu înțeles ecologic.

Pentru măsurarea valorilor lui **PB**, **PN** și **R** este utilizat un set de trei probe pe care le-am notat cu M, L și N. Proba M (martor) este necesară pentru a se cunoaște cantitatea inițială de oxigen din apă. În proba L (sticlă transparentă), algele planctonice vor realiza simultan procesul fotosintezei, de producere a oxigenului, și respirația, de consum a oxigenului. Se va înregistra așadar un bilanț între **PB** și **R** pentru timpul de experiență. Proba N (din sticlă închisă la culoare), prin sistarea accesului luminii la cloroplasate, va permite măsurarea numai a cantității de oxigen consumată prin respirație (**R**). Deci, în cele trei sticle se vor înregistra următoarele valori (cu **O** notăm cantitatea de oxigen existentă la începutul experimentului) :

$$M = \mathbf{O}$$
$$N = \mathbf{R} + \mathbf{O}$$
$$L = \mathbf{PB} - \mathbf{R} + \mathbf{O}$$

Prin urmare, pentru a determina cele trei valori ale producției, vom utiliza ecuațiile de mai jos :

$$\mathbf{PN} = L - M \quad (1)$$
$$\mathbf{R} = M - N \quad (2)$$
$$\mathbf{PB} = L - N \quad (3)$$

Scanned with OKEN Scanner

Modul de calcul al celor trei ecuaţii este evident, dacă se ştie că :

$$PB = PN + R.$$

Ecuaţia respiraţiei (2) se înţelege cunoscînd faptul că, prin utilizarea oxigenului din sticla ecranată (N), cantitatea acestuia va fi mai mică la sfîrşitul experienţei decît la începutul ei. Prin urmare, diferenţa între cantitatea iniţială (măsurată prin proba M) şi cea finală (măsurată prin proba N) va exprima tocmai valoarea consumului de oxigen prin respiraţie în timpul experienţei.

Dacă analizăm cele trei ecuaţii observăm încă două aspecte :

a. timpul de referinţă al parametrilor producţiei este egal cu timpul de experienţă (1 oră) ;

b. unitatea de spaţiu este egală cu volumul vasului (V = circa 100 ml).

Deci, unitatea de măsură utilizată va fi exprimată în $\frac{cc\ O_2}{0{,}1\ l \times 1 oră}$.

Rezultatele obţinute se vor putea exprima astfel direct dacă nu se solicită o apreciere riguroasă. În cazul din urmă trebuie însă să ţinem seama de faptul că volumul sticlelor este diferit de 100 ml. Notînd cu V_1 volumul sticlei M, cu V_2 volumul sticlei N şi cu V_3 volumul sticlei L din fiecare set, vom obţine următoarele corecţii :

$$k_1 = \frac{100}{V_1};$$

$$k_2 = \frac{100}{V_2};$$

$$k_3 = \frac{100}{V_3}.$$

În acest caz, ecuaţiile (1), (2), (3), modificate în sensul de-a exprima cantitatea de O_2 produsă (sau consumată) la 0,1 l apă la intervalul de o oră vor fi :

$$PN = \frac{Lk_1 - Mk_3}{k_1k_3} \quad O_2/0{,}1\ l \cdot oră \qquad (4)$$

$$R = \frac{Mk_2 - Nk_1}{k_1k_2} \quad O_2/0{,}1\ l \cdot oră \qquad (5)$$

$$PB = \frac{Lk_2 - Nk_3}{k_2k_3} \quad O_2/0{,}1\ l \cdot oră \qquad (6)$$

Pentru determinarea cantităţilor de oxigen dintr-un set de trei probe se vor utiliza următoarele soluţii :

1) soluţia de clorură manganoasă se prepară din 100 g $MnCl_2 \cdot H_2O$ dizolvate în 200 ml apă distilată, fiartă şi răcită ;

2) soluţia de iodură de potasiu în hidroxid de sodiu se prepară din 40 g NaOH dizolvat în 80 ml apă distilată. După dizolvare se adaugă 20 g KI ;

3) soluţia de tiosulfat de sodiu 0,01 N se prepară, dizolvînd 2,481 g tiosulfat de sodiu ($Na_2S_2O_3$) în puţină apă distilată fiartă şi răcită într-un balon cotat de 1 l. În acelaşi balon se adaugă 0,2 g carbonat de sodiu anhidru, 10 ml alcool amilic şi se completează cu apă distilată (fiartă şi răcită) pînă la semn ;

Scanned with OKEN Scanner

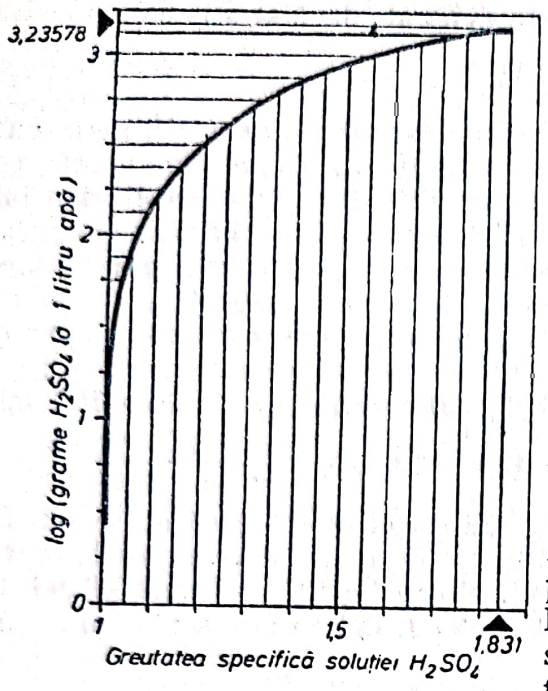


Figura 50. Relația între greutatea specifică a soluției H_2SO_4 și logaritmul cantității de H_2SO_4 la litru; valorile maxime sînt indicate cu săgeți.

4) soluția de amidon 1% se prepară prin introducerea a 1 g amidon solubil într-un vas Erlenmeyer cu 20 ml apă distilată la rece. Se agită bine și se toarnă treptat peste 80 ml apă distilată la fierbere, agitînd continuu cu o baghetă de sticlă. Soluția se lasă să mai fiarbă încă 3—5 minute.

Determinarea cantității de oxigen din fiecare probă se realizează prin trei operații: titrarea prealabilă a soluției de tiosulfat (în laborator), fixarea oxigenului (pe teren) și titrarea sa (în laborator).

■ **Titrarea soluției de tiosulfat** este necesară întrucît cîntărirea cantității indicate pentru realizarea soluției comportă în cele mai multe cazuri erori. Modificările realizate astfel concentrației soluției de tiosulfat se reflectă în rezultate eronate în ceea ce privește aprecierea cantității de oxigen din apa analizată. Prin titrare se calculează de fapt coeficientul de transformare al concentrației soluției realizate (reale) în concentrația soluției dorite.

Pentru titrarea tiosulfatului se pregătesc: o soluție 0,01 N de bicromat de potasiu ($K_2Cr_2O_7$) și o soluție 10% de acid sulfuric (H_2SO_4).

a. Soluția de bicromat de potasiu 0,01 N se prepară prin cîntărirea exactă a 0,4903 g $K_2Cr_2O_7$ la balanța analitică*. Într-un balon cotat de 1 l se introduc 500 ml apă distilată în care se dizolvă substanța cîntărită. Cînd dizolvarea s-a realizat se completează cu atenție volumul de apă distilată pînă la semn, avînd grijă a nu se depăși acesta. Pentru siguranță ultimele cantități de apă distilată sînt adăugate picătură cu picătură, verificînd de fiecare dată nivelul atins. Este evident faptul că o cantitate mai mică de apă distilată (sub semn) înseamnă o concentrație mai mare de 0,01 N a soluției de bicromat și invers.

b. Soluția de H_2SO_4 10% se obține prin utilizarea unei soluții concentrate (de 93,94% sau cu o greutate specifică de 1,831 g/cm³). Se iau 58,1 ml dintr-o astfel de soluție și se toarnă treptat într-un balon cotat de 1 l umplut pînă la jumătate cu apă distilată. Diluarea este însoțită de o reacție violentă cu producere de căldură. După răcire se completează soluția cu apă distilată pînă la semn.

Este deci necesar să se verifice greutatea specifică a soluției inițiale de H_2SO_4 cu densimetrul. În cazul că aceasta este diferită de 1,831 g/cm³ se va înregistra valoarea respectivă. Pe baza graficului din figura 50 se estimează

* Cîntărirea exactă se va realiza într-un laborator de specialitate. Dacă nu există această posibilitate se vor cîntări 2,5 g tisulfat și 0,5 g $K_2Co_2O_7$ și se va introduce un factor astfel: pentru tiosulfat factorul de corecție este egal cu 0,9924, iar pentru bicromat este egal cu 0,9806. Numărul de centimetri cubi folosiți pentru cele două soluții vor fi înmulțiți cu factorul corespunzător de corecție.

Scanned with OKEN Scanner

apoi greutatea (în grame) a acidului sulfuric la 1 l soluție. Presupunem de exemplu că greutatea specifică măsurată este de 1,6 g/cm³. Din figura 50 rezultă că logaritmul cantității de H_2SO_4 în grame la litru care corespunde acestei greutăți specifice este de aproximativ 3,04. Se caută în tabela de logaritmi antilogaritmii extremi pentru 3,04 și se face media lor care se ia drept valoare căutată (a se vedea capitolul 2.3). Antilogaritmii care încadrează valoarea logaritmică de 3,04, fiind 1 100 și 1 110, media lor este de 1 105. Cantitatea în g/l de H_2SO_4 la o soluție cu greutate specifică de 1,6 g/cm³ este de 1 105,44, deci eroarea de calcul este acceptabilă, fiind redusă sub 0,1% (exact 0,03981%).

Pentru a realiza o soluție 10% H_2SO_4 vor fi necesare 100 g H_2SO_4 la 1 000 ml soluție. Volumul soluției care se va utiliza, avînd greutatea specifică 1,6 pentru realizarea soluției de 10% va fi:

1 000 ml soluție . . . . . 1 105 g H_2SO_4

x ml soluție . . . . . 100 g H_2SO_4

Deci:

$$x = \frac{100 \times 1\,000}{1\,105} = 90{,}5 \text{ ml.}$$

Apoi, într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, se toarnă cu precauție 90,5 ml soluție H_2SO_4 cu greutatea specifică de 1,6 g/cm³. După răcire se completează soluția pînă la 1 l cu apă distilată.

În principiu, dacă notăm cu E cantitatea de H_2SO_4 măsurată în grame la 1 l de soluție disponibilă, atunci volumul V din această soluție utilizat pentru prepararea unei soluții 10% se va calcula astfel:

$$V = 100\,000 \times \frac{1}{E} \text{ (ml).}$$

Din soluția de bicromat de potasiu 0,01 N preparată se pun cîte 20 ml în trei vase Erlenmeyer de 200 ml și se adaugă pentru fiecare cîte 1,2 g iodură de potasiu cristalină, 80 ml apă distilată și 10 ml H_2SO_4 soluție 10%. Se agită vasele pentru înlesnirea reacțiilor. Se lasă apoi vasele cu soluții circa un sfert de oră pentru ca să se elibereze complet iodul din iodura de potasiu prin reacția acesteia cu bicromatul de potasiu și acidul sulfuric.

Soluția de tiosulfat de sodiu 0,01 N este introdusă într-o biuretă. Se titrează apoi iodul liber din cele trei vase Erlenmeyer cu tiosulfat pînă ce soluțiile ating culoarea galben-deschis (pai). În acest moment se adaugă cu pipeta cîteva picături de soluție de amidon 1% în urma căreia soluțiile din vasele Erlenmeyer vor căpăta culoarea albastră. Titrarea se continuă apoi picătură cu picătură pînă ce culoarea se va schimba brusc din albastru închis pînă la alb (cu ușoare nuanțe de albastru). Se notează pentru fiecare dintre cele trei vase numărul de mililitri de tiosulfat de sodiu utilizat și se calculează media M. Factorul (F) soluției 0,1 N de tiosulfat de sodiu utilizat se estimează astfel:

$$F = \frac{20}{M}.$$

■ **Fixarea oxigenului** din probă se realizează prin introducerea a 1 ml soluție KI în NaOH și 1 ml soluție de clorură manganoasă ($MnCl_2$). Se utili-

Scanned with OKEN Scanner

zează două pipete gradate de 1 ml, care se introduc pînă la fundul sticlei de apă; a nu se trece o pipetă dintr-o soluție în cea de a doua.

Este important ca inițial apa de analizat din sticlă să umple întreg spațiul fără a rămîne bule de aer. În acest scop, apa de analizat (din acvariu) se introduce încît să depășească cu puțin marginea de jos a gîtului sticlei. Dopul rodat se apasă treptat încît excesul de apă să iasă prin spațiul dintre el și gîtul sticlei. În aceste condiții dopul nu se va mai deschide pînă în momentul fixării oxigenului.

După introducerea celor doi reactivi, fiecare sticlă se închide cu dopul rodat respectiv așa cum s-a indicat mai sus (evitînd lăsarea de bule de aer). În urma reacției, se va forma un precipitat de hidroxid manganos — $Mn(OH)_2$ — de culoare brună. Sticlele se agită bine pentru înlesnirea reacției de precipitare și pentru ca hidroxidul manganos să intre în contact cu oxigenul din apă. Se lasă apoi sticlele pe masa de lucru pentru depunerea precipitatului. Cînd acesta s-a sedimentat, lăsînd soluția supranatantă limpede se deschide din nou dopul fiecărei sticle și se introduc cîte 3 ml acid clorhidric concentrat. Se închid sticlele cu aceeași precauție și se agită bine pînă ce precipitatul se dizolvă.

■ **Titrarea oxigenului** se realizează indirect prin titrarea iodului eliberat în urma reacțiilor din faza anterioară. Iodul eliberat este proporțional cu oxigenul din apă și se titrează cu tiosulfat de sodiu soluție 0,01 N.

Probele de apă cu iodul obținut în sticlele cu dop rodat se varsă în vase Erlenmeyer. Sticlele se clătesc cu apă distilată și conținutul se adaugă în vasul Erlenmeyer respectiv. Se începe titrarea cu tiosulfat (existent în biuretă) pînă la obținerea unei culori galben-pai. În acest moment se introduc cîteva picături de soluție de amidon 1% și se continuă titrarea pînă la virarea culorii de la albastru închis la alb (cu fond slab albastru). Se înregistrează pentru fiecare probă cantitatea de mililitri tiosulfat folosit (N). Cantitatea de oxigen din probă (C) se calculează astfel:

$$C = \frac{N \cdot F \cdot 0{,}056}{v - 2} \text{ cm}^3 \ O_2/\text{l}.$$

Pentru calcul, pe lîngă valoarea lui N, sînt necesare valorile lui F (factorul tiosulfatului) și v (volumul sticlei cu dop rodat). Constanta 0,056 este un factor de proporționalitate (cm^3 oxigen ce corespund la 1 ml tiosulfat 0,01 N), iar 2 reprezintă volumul soluțiilor de KI în NaOH și $MnCl_2$.

Rezultatele obținute pentru setul celor trei probe (M, N, L) se interpretează după cum s-a indicat în partea inițială a lucrării practice.

1.5.2.7. Repere în studierea unui ecosistem silvic

Cercetările ecologice pentru relevarea organizării și dinamicii unui ecosistem sînt extrem de pretențioase. Una dintre dificultățile importante se referă la neuniformitatea răspîndirii valorilor factorilor abiotici și biotici (de exemplu, densitatea organismelor) în spațiu și timp. Aceasta face ca uneori diferențe de valori accidentale să fie considerate caracteristice și invers. Pentru cercetările de teren se impune astfel, în primul rînd, definirea stațiunii sau

Scanned with OKEN Scanner

staţiunilor de prelevare a probelor. Prin *staţiune* se înţelege o zonă relativ uniformă din punctul de vedere al distribuţiei valorilor factorilor abiotici şi biotici. Aceste valori respectă o distribuţie normală. Definirea unei staţiuni pentru un ecosistem terestru se realizează în funcţie de o asociaţie vegetală uniformă. Din acest teritoriu se colectează probe preliminare pentru a se identifica dacă şi celelalte valori specifice ecosistemului sînt relativ similare. Se poate utiliza în acest sens *testul coeficientului de variaţie* (a se vedea capitolul de statistică). Arealul staţiunii trebuie să fie suficient de întins pentru a permite prelevarea simultană a mai multor probe, proces care se repetă pentru cercetările de dinamică a ecosistemului.

Se recomandă ca iniţial să se realizeze o excursie de recunoaştere a teritoriului cu definirea în principiu a staţiunilor după asociaţiile vegetale existente şi prelevare de probe pentru fiecare în parte. De un real sprijin este realizarea unei cartări a asociaţiilor.

Materiale necesare : carnet de teren, creion, pensă, lupă, tubuleţe pentru colectat nevertebrate, pungi de plastic, cadru de lemn sau sîrmă (de 1/4 m^2 şi 1 m^2), mapă de ierborizat, termometru, riglă gradată în centimetri, ruletă, busolă, sondă edafică. Material în laborator : balanţă analitică cu greutăţi, microscop, lupă, sticlărie de laborator, apă distilată.

Mod de lucru. Pentru fiecare staţiune şi moment al cercetării se va alcătui o fişe de observaţii pe care o redăm în cele ce urmează. Ea poate fi completată sau simplificată după nivelul de profunzime al cercetărilor.

1) *Deplasarea nr.* ...
2) *Localitatea geografică* ...
3) *Staţiunea* ...
4) *Data* ...
5) *Fenofaza* (a se vedea mai jos punctul A) ...
   a. Pentru speciile vegetale de reper (se aleg cîteva specii lemnoase care se vor urmări pe tot timpul cercetărilor dacă aceastea se eşalonează în timp) ...
   b. Observaţii generale. ...
6) *Temperatura* (prelevare cu termometru) ...
   a. Cantitativ : în aer (la 1 m înălţime), în litieră, în sol (la 5 cm adîncime) ...
   b. Calitativ, semnalarea îngheţului solului, alte observaţii ...
7) *Umiditatea* ...
   a. Observaţii generale (manifestarea de precipitaţii şi tipul acestora în timpul excursiei şi eventual în ziua precedentă, etc.) ...
   b. Aprecieri cantitative (a se vedea mai jos punctul B) ...
8) *Vîntul* (a se vedea punctul C) ...
9) *Solul* ...
   a. Profilul solului (a se vedea punctul D) ...
   b. Probe de analiză a solului ca mediu de viaţă (a se vedea punctul E). Se notează amplasamentul lor. Prelevarea se realizează cu ajutorul unei sonde (fig. 51) la adîncimi diferite (de exemplu, la 5 cm şi 10 cm) şi din mai multe locuri în staţiune. Probele se pun în pungi de plastic ...
   c. Probe pentru biocenoza edafică (a se vedea punctul F). Prelevarea este similară ca mai sus. Se colectează cu pensa şi se notează prezenţa unor nevertebrate mari (lumbricidae, miriapode, larve de insecte) ...

Figura 51. Sonda de sol.

Scanned with OKEN Scanner

10) *Litiera* (stratul de frunzar mort de pe sol) ...

a. Componență după esențe (determinare în laborator) ...

b. Starea frunzarului: uscat, se fărîmițează etc. ...

c. Grosime ...

d. Probe. Se delimitează o suprafață anumită cu ajutorul unui cadru; de exemplu un sfert de m² definită de un pătrat cu latura de 0,5 m. Probele se colectează în pungi de plastic. Se vor preleva probe pentru determinarea umidității (a se vedea mai jos punctul B) și a faunei (punctul G). Se notează amplasamentul probelor ...

e. Observații asupra prezenței nevertebratelor mari (miriapodae, arahnide) sau insectelor aripate pasagere în litieră.

11) *Parterul* (definit de asociația ierboasă și de fauna existentă) ...

a. Componența vegetală. Se definește prin determinarea tuturor plantelor pe o suprafață delimitată de un cadru de 1 m². Plantele se colectează în mapă de ierborizat și se determină în laborator. Se efectuează mai multe prelevări de probe, o probă fiind socotită materialul vegetal dintr-un cadru ...

b. Înălțimea ...

c. Distribuția parterului: uniformă, întîmplătoare, grupată ...

d. Biomasa vegetală pe m² (prin cîntărirea în laborator) ...

e. Componența animală. O colectare mai riguroasă se poate realiza cu fileul entomologic în cazul unui parter ierbos înalt și uniform ...

12. *Stratul* (straturile) arbuștilor și arborilor; se delimitează și pentru fiecare în parte se observă:

a. Componența floristică (determinări in situ sau în laborator, caz în care se colectează lujerii) ...

b. Înălțimea ...

c. Densitatea la 10 m² a arbuștilor/arborilor ...

d. Distribuția stratului: uniformă, întîmplătoare, grupată ...

e. Starea trunchiului (sfredelitori, alte animale) ...

f. Animalele din coronament ...

13) *Centrele de activitate din stațiune* ...

a. Suportul nutritiv ...

b. Colectarea de probe și definirea amplasamentului ...

14) *Semnalarea prezenței vertebratelor* ...

*

A. Fenofazele speciilor lemnoase (după D. Ivan și N. Doniță, 1975):

1) *Faza vegetativă:* a) pornirea sevei; b) umflarea mugurilor foliari; c) apariția frunzulițelor; d) înfrunzirea în masă; e) sfîrșitul înfrunzirii; f) terminarea creșterii lăstarilor și tulpinilor.

2) *Faza de îmbobocire și înflorire:* a) umflarea mugurilor florali; b) îmbobocirea; c) primele flori; d) înflorirea în masă; e) scuturarea florilor în masă.

3) *Faza fructificației:* a) formarea fructelor; b) dezvoltarea fructelor în masă; c) primele fructe coapte; d) coacerea în masă; e) începutul căderii fructelor; f) sfîrșitul căderii fructelor.

4) *Faza de încheiere a vegetației:* a) începutul colorării frunzelor; b) colorarea în masă; c) începutul căderii frunzelor; d) căderea în masă; e) sfîrșitul căderii frunzelor.

5) *Faza de repaus vegetativ.*

Scanned with OKEN Scanner

B. **Aprecierea cantitativă a umidităţii**

1) *După scara prof.* M. A. Ionescu *(1932) prin aprecierea umidităţii din litieră:*

UFM = umiditate foarte multă, frunzar complet îmbibat cu apă;

UM = umiditate multă, frunzele de deasupra încep a se usca;

UP = umiditate potrivită, frunzele de deasupra uscate, litiera la bază umedă;

U_p = umiditate puţină, litiera la bază începe să se usuce, solul la suprafaţă umed;

U_{fp} = umiditate foarte puţină, litiera uscată, solul încă umed;

X = uscăciune completă, solul uscat pe cel puţin 10 cm adîncime.

2) *Prin metoda cîntăririi litierii.* Se obţine printr-o cîntărire iniţială greutatea litierii umede + + punga de plastic. Se usucă frunzele, punga se şterge bine; se repetă cîntărirea litierii în aceeaşi pungă. Diferenţa de greutate între cîntăriri relevă umiditatea.

C. **Aprecierea direcţiei şi intensităţii vîntului fără echipament special**

1) *Intensitatea relativă:*

fP = foarte puternic, crengile copacilor se lovesc, copacii tineri se îndoaie;

P = puternic, ramurile tinere se lovesc;

A = adiere cu mişcarea frunzelor;

C = calm.

2) *Direcţia cu busola şi steagul meteorologic.*

D. **Profilul solului** (orizonturi din partea superioară spre profunzime) (după prof. C. Chiriţă, 1974):

Ol = litiera, material proaspăt nedescompus;

A sau *O; A* este orizontul de acumulare a humusului. Minimum 1% materie organică, maximum 20% (cînd nu conţine argilă) sau 30% (cînd conţine peste 50% argilă). Dacă solul este acoperit de litieră primul orizont este *O* = orizont organic, conţinînd peste 30% materie organică, fiind în genere umed.

B = orizontul mineral de alterare, de culoare sau de levigare (corect: iluviere). Este, în genere, mai închis la culoare decît *Ol* sau *A*.

C = orizontul de acumulare a carbonaţilor conţine peste 12% carbonaţi cînd are o grosime peste 15 cm şi proporţional mai puţin cînd este mai subţire.

D = orizontul mineral de rocă neconsolidată care poate fi sau nu materialul parental al solului.

R = orizontal mineral de rocă consolidată.

Profilul solului se relevă după ce se sapă o groapă în sol, cu un perete vertical şi cel opus, în trepte.

E. **Analiza caracteristicilor solului ca mediu de viaţă pe baza probelor prelevate**

1) *Compoziţia granulometrică.* Un cilindru gradat de 250 cc se umple cu apă pînă la nivelul de 200 cc. Se adaugă apoi sol pînă la ridicarea apei la nivelul superior (250 cc). Se lasă cilindrul nemişcat cîteva ore pentru sedimentarea fracţiunilor. Se vor recunoaşte de la bază în sus următoarele fracţiuni: *P* = pietriş; *NG* = nisip grosier; *Nf* = nisip fin; *M* = mîl; *A* = apă cu argilă fină; *H* = humus şi particule organice (supranatant). Se identifică volumul fiecărei fracţiuni. Proporţia acestora (*p*) faţă de volumul total de sol se calculează astfel:

p = volumul fracţiunii × 0,4.

2) *Proporţia humusului în probă* se află prin produsul dintre volumul supranatantului şi 0,4.

3) *Apa din sol* se află prin diferenţa de cîntărire (ca la litieră).

F. **Analiza animalelor din probele de sol**

Aceasta impune două operaţii succesive: trierea şi numărarea.

1) *Trierea* sau separarea organismelor animale din substrat se poate realiza rapid cu o pîlnie Berlense. Aparatul este alcătuit dintr-o pîlnie pe care se află fixată o sită cu bordură

Scanned with OKEN Scanner

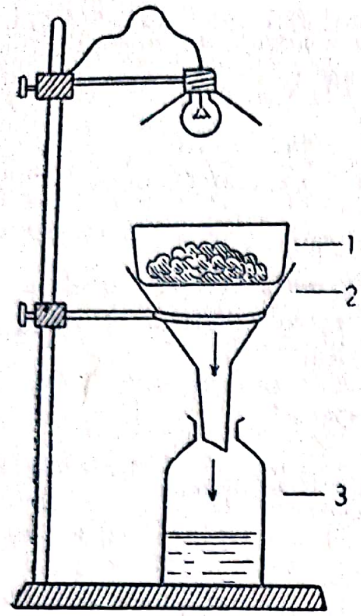


Figura 52. Pîlnia Berlense : 1 — sită ; 2 — pîlnie ; 3 — borcan cu alcool.

înaltă deasupra căreia se aprinde un bec (fig. 52). La capătul de jos al pîlniei se pune un borcan cu alcool. Proba de sol se pune pe sită. Becul aprins datorită luminii și căldurii degajate gonește animalele din sol spre baza probei și le obligă să treacă prin sită ; de aici sînt apoi colectate în borcan prin cădere. Se recomandă ca becul să nu fie puternic pentru a nu produce uscăciune rapidă. Pîlnia și sita se pot cumpăra de la un magazin de ustensile casnice, cele mai potrivite, fiind cele de material plastic.

Numărarea indivizilor se execută pe grupele mari care se pot recunoaște mai ușor : nematode, enchytreide, acarieni, colembole.

Nematodele sînt viermi cilindrici ; atenție a nu fi confundați cu fragmente radiculare : prin transparență și iluminare bună se observă traectul tubului digestiv. *Enchytraeida* cuprinde viermi anelizi, similari lumbricidelor atît de bine cunoscute, însă de dimensiuni mai mici și de culoare alb-gălbui. Acarienii formează un grup numeros de arahnide, cu indivizi de dimensiuni în genere mici. În stadiul de adult, posedă patru perechi de picioare. Colembolele sînt insecte mici, nearipate primar ; specifice le sînt prezența antenelor, trei perechi de picioare și a unei furci abdominale care permite efectuarea de sărituri.

Pentru numărat, proba obținută în borcan din pîlnia Berlense se răstoarnă într-un cristalizator. Se pune cîte puțin pe o lamă de ceas în alcool. Materialul este centrat printr-o ușoară mișcare circulară. Număratul se efectuează sub o lupă puternică (10x) prin detașarea dintr-o margine a materialului și îndepărtarea celui observat. Operația se realizează cu un ritm ce permite recunoașterea grupelor și numărarea indivizilor. Pentru clarificări asupra morfologiei organismelor acestea se pun pe o lamă într-o picătură de lichid și se observă la un microscop cu putere mică de mărire (100x). Transportul pe lamă se realizează cu o pipetă efilată, iar animalul este orientat morfologic sub lupă cu ajutorul unor ace entomologice.

G. Analiza animalelor din probele de litieră. Trierea se realizează cu pîlnia Berlense. Se procedează apoi la recunoașterea și numărarea indivizilor. Grupele de animale specifice sînt : araneidele, pseudoscorpionii, acarienii, miriapodele, colembolele, coleopterele, himenopterele, larvele de diptere. Pentru determinare se vor consulta diferite tratate de zoologie.

Scanned with OKEN Scanner

2. EVOLUȚIONISMUL

Concepția evoluționistă contemporană, cunoscută sub numele de teoria sintetică a evoluției, este bazată pe evoluționismul darwinist, fiind o sinteză a tezei selecției naturale, elaborată de C h. D a r w i n, și a geneticii populaționale, exprimînd procesul evoluției într-o formă cantitativă, prin folosirea metodelor matematice.

Evoluția este definită ca modificarea statistică a structurii genetice populaționale sub acțiunea factorilor evolutivi. Structura genetică a populației se exprimă, atît prin existența simultană în populație a diversității genotipilor (și respectiv formelor alelice ale genelor), cît și prin proporțiile specifice fiecăruia. Diferențele dintre indivizii populației sînt desemnate prin termenul de *variabilitate*. Teoria sintetică acordă o importanță fundamentală variabilității determinate genetic deoarece schimbările produse asupra ei de către factorii evolutivi se transmit în descendență și se înregistrează treptat sub forma evoluției populației, speciei și a unităților sistematice superioare.

Teoria sintetică consideră trei factori evolutivi majori generatori ai variabilității genetice : 1) mutațiile, 2) recombinările genetice, 3) migrațiile. Prin acțiunea lor se mărește amplitudinea variabilității. Contrar acestora, variabilitatea genetică este restrînsă ca limite de manifestare prin activitatea altor trei factori fundamentali : 4) driftul genetic, 5) selecția sexuală, 6) selecția naturală.

Cu excepția selecției naturale, ceilalți cinci factori acționează întîmplător în raport cu cerințele adaptative ale populației sau speciei. Selecția naturală, fiind rezultanta cerințelor pe care le impune mediul de viață al populației, are rolul de mecanism, de feed-back adaptativ, controlînd și retușînd variabilitatea genetică populațională, realizată prin acțiunea celorlalți cinci factori cu acțiune adaptativă întîmplătoare.

Teoria sintetică a evoluției, ca și evoluționismul darwinist, subliniază deci rolul extrem de important pe care îl joacă selecția naturală ca factor evolutiv.

Deoarece presiunea factorilor întîmplători este continuă în fiecare generație, cît și din alte cauze care vor fi analizate ulterior, selecția naturală nu reușește să impună o concordanță perfectă între cerințele mediului și structura genetică populațională. Procesul evolutiv se desfășoară astfel prin realizarea de „compromisuri" adaptative. Se înțelege prin aceasta atît faptul că adaptările nu sînt perfecte cît și ideea că o parte a variabilității genetice este impusă întîmplător în raport cu cerințele mediului. (Darwin a numit această sferă a variabilității cu numele de „variante neutre").

Scanned with OKEN Scanner

Evoluția unor unități sistemice mici, ca populația și specia (microevoluție) sau mari, supraspecifice (macroevoluție și megaevoluție) nu comportă factori diferiți. Specific este numai intervalul mai scurt sau, respectiv, mai lung de acțiune a aceloraşi factori, avînd ca rezultat manifestarea divergenței evolutive mai atenuat sau mai profund.

2.1. VARIABILITATEA

După cum știm, prin *variabilitate* se înțelege totalitatea diferențelor care se manifestă între indivizii aceleiași specii sau, mai restrîns, în cadrul unei singure populații. Diferențele se înregistrează prin manifestări specifice individuale de factură morfologică, fiziologică, ecologică, etologică. Diferențele, de orice fel, pot fi datorate contribuției unor genotipi nonidentici, realizînd *variabilitatea genetică*, cît și acțiunii unor factori de mediu (care nu sînt deci determinanți genetic), realizînd *variabilitatea nongenetică*. Ambele categorii se însumează, prezentîndu-se cercetătorului sub forma unui proces comun, desemnat prin termenul de variabilitate. Se impun astfel metode de analiză diferențiată care să permită a se defini caracterele și măsura în care sînt determinate genetic.

Variabilitatea genetică a unei populații, într-o anumită generație, se poate considera că reprezintă un *bilanț evolutiv* al contribuției anterioare a celor șase factori majori evolutivi în modificarea structurii genetice. Fiecare populație sau specie este alcătuită dintr-un complex de gene (*genofond*) aflate între ele în anumite raporturi specifice, ambele elemente fiind caracteristice pentru *structura genetică a populației* sau speciei respective.

Variabilitatea genetică, ca și variabilitatea, în general, cuprinde două subdiviziuni fundamentale: variabilitatea continuă și discontinuă, după felul caracterelor care se studiază.

Variabilitatea genetică continuă cuprinde caractere cantitative (care se măsoară), ca de exemplu: înălțimea, lungimea, greutatea indivizilor etc., fiind reprezentată prin valori de diferite mărimi, de la cea mai mică la cea mai mare, într-un șir unitar fără posibilitatea de a se subgrupa. Faptul este datorat lipsei de „pauze" în acest șir care ar permite identificări de tipuri (grupuri).

Variabilitatea genetică discontinuă este alcătuită din caractere calitative specifice (forma corpului, coloratia, desenul etc. la diferite specii animale), ca și meristice (obținute prin numărare: de exemplu, numărul de radii în înotătoarele peștilor, numărul de flori într-o inflorescență etc.). Caracterele calitative și meristice sînt reprezentate prin valori grupate, care permit identificarea naturală a unor tipuri de indivizi despărțite mai mult sau mai puțin precis, prin lipsa indivizilor cu caractere intermediare. Existența în cadrul aceleiași populații și în aceeași generație a mai multor tipuri de indivizi din punct de vedere morfologic, fiziologic, ecologic etc., determinate genetic, este desemnată sub numele de *polimorfism*. În unele situații, de exemplu, în cazul unei diversități mari de tipuri sau a diferențelor mai slabe dintre acestea, nu se poate identifica un fenomen de polimorfism populațional din punct de vedere practic.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.1. Determinarea variabilității nongenetice

Materiale necesare : frunze de tei (indiferent de specie) din același arbore, riglă gradată, creion, hîrtie, hîrtie de calc, balanță analitică.

Mod de lucru. Este cunoscut de la fiziologia vegetală rolul important pe care îl joacă lumina în viața plantelor. Complexul foliar din cadrul unui arbore prezintă o variabilitate nongenetică, datorată aceleiași baze genetice. Observatorul atent va identifica faptul că, în mare măsură, variabilitatea foliară este legată de expoziție, manifestîndu-se, în general, o stratificare eficientă pentru recepționarea energiei solare de către frunze. Putem deci testa rolul pe care îl joacă așezarea frunzelor, din punctul de vedere al cantității de lumină, în determinarea mărimii suprafeței foliare. În acest scop, vom colecta două loturi de frunze din același arbore :

— frunze de la exteriorul coronamentului, exclusiv partea inferioară, umbrită — lot L (însorit) ;

— frunze din interiorul coronamentului, cît mai aproape de tulpina principală — lot U (umbrit).

Se vor colecta cîte 50 frunze pentru fiecare lot. Este recomandabil ca cele două loturi de frunze să fie ierborizate, fiecare planșă avînd înregistrat lotul căruia aparține și numărul de ordine al frunzei. Realizarea unei colecții foliare va permite unele măsurători ulterioare, fiind în același timp și un material cert de documentare, cînd colecția se va amplifica.

Se pot realiza cel puțin următoarele trei modalități de măsurare a frunzelor :

1) Cu rigla pentru lungimea limbului între baza de înserare a pețiolului și punctul final al acumenului (frunzele sînt în general, acuminate) ; se va considera astfel că suprafața limbului este o funcție de lungimea lui, ceea ce nu este greșit, dar implică unele erori.

2) Se conturează pe hîrtia de calc un caroiaj format dintr-o rețea de pătrate cu latura de 0,5 cm. Se poate recomanda în principiu ca rețeaua să aibă suprafața de 15 × 15 cm, dar cercetătorul va găsi singur mărimea convenabilă după limbul cu suprafață maximă. Măsurarea suprafeței fiecărei frunze se va realiza prin suprapunerea hîrtiei de calc cu rețea pe limb și numărarea pătratelor în care acesta se încadrează. Evident că se înregistrează și în acest caz o eroare rezultată din însumarea fracțiunilor de pătrat parțial ocupate de limb, dar după un număr de operații se elimină în general supra- sau subaprecierile.

3. Se desenează pe calc conturul fiecărui limb, se decupează apoi suprafețele obținute și se cîntăresc individual. Se cîntărește apoi un pătrat din hîrtie de calc de 10 × 10^2. Suprafața fiecărei frunze (S) se estimează apoi prin regula de trei simplă, cunoscînd greutatea modelului său de calc (G), greutatea (K) și suprafața (100) pătratului de calc.

$$S = 100 \cdot \frac{G}{K} \quad (cm^2)$$

Aceasta este metoda cea mai corectă de estimare a suprafeței limbului dintre cele indicate.

Este de recomandat ca, atunci cînd se fac alte comparații cu loturi noi adăugate colecției, să se reia pentru întreaga colecție operația. Calcul vechi implică erori de măsurătoare prin absorbția vaporilor de apă din aer, ceea ce îi modifică greutatea.

Scanned with OKEN Scanner

Valorile prin care se estimează suprafaţa limbului se prelucrează separat pentru loturile respective. Pe baza lor se vor calcula media ($\bar{x}$), varianţa (s^2) şi coeficientul de variaţie (c) după ecuaţiile specifice (v. capitolul de statistică).

Observaţii. Lucrarea practică se poate efectua şi prin măsurarea frunzelor altor specii cu condiţia ca suprafaţa limbului să nu fie foarte compartimentată, ceea ce ar împiedica o estimare cît mai apropiată de valorile reale. De exemplu, lobulaţia frunzelor de stejar poate crea dificultăţi în acest sens.

Am prezentat o lucrare privind testarea diferenţelor variabilităţii nongenetice pentru a ilustra faptul că, în mod surprinzător, se pot înregistra diferenţe importante în astfel de situaţii. Sîntem astfel avertizaţi pentru lucrările privind variabilitatea în general, că o proporţie importantă a ei este datorată acţiunii factorilor de mediu.

Variabilitatea nongenetică după procedeul citat se poate identifica ori de cîte ori un caracter individual se repetă (de exemplu, frunzele unui copac, înălţimea tulpinilor la graminee care înfrăţesc etc).

2.1.2. Identificarea normei de reacţie

Un număr destul de mare de plante ierboase şi lemnoase manifestă un fenomen de heterofilie, frunzele avînd forme diferite, deşi aparţin aceleiaşi plante şi respectiv genotip. Totalitatea fenotipilor sub care se înfăţişează un genotip poartă numele de *normă de reacţie*.

Vom analiza acest aspect al variabilităţii nongenetice pe baza diferenţelor în morfologia limbului foliar la aceeaşi plantă pentru speciile indicate mai jos.

Materiale necesate : plante ierborizate (porţiuni de tulpini cu frunze de *Batrachium aquatile* (L) Dumort., *Ranunculus cassubicus* L., *Sagittaria sagittifolia* L., *Hedera helix* L., *Morus nigra* L.) creion, hîrtie, hîrtie de calc, riglă.

Mod de lucru. *Batrachium aquatile* (L.) Dumort numit şi piciorul-cocoşului de apă se colectează din lacurile de cîmpie. Frunzele submerse sînt sectate cu foliole filiforme, iar cele emerse sînt lobate. Marea majoritate a speciilor genului se caracterizează prin heterofolie.

Ranunculus cassubicus L. se colectează din pădurile umbroase de fag. Prezintă două tipuri de frunze : cele bazale sînt rotunde, relativ mari şi întregi, însoţite de un peţiol lung, iar cele superioare sînt îngust-obovate, parţial segmentate, cu peţiol scurt.

Sagittaria sagittifolia L., numită popular săgeata-apei, este o plantă de apă stătătoare sau cu un curent redus. Prezintă trei tipuri de frunze : cele submerse sînt lineare, cele natante sînt cordiforme, iar cele aeriene sagitate.

Plantele citate sînt ierboase, două acvatice şi una terestră. Ierborizarea se realizează greu de cele mai multe ori din cauza dimensiunilor mari ale plantelor. În acest caz, se recomandă a se colecta şi ierboriza părţile care interesează de la aceeaşi plantă, respectiv frunze cu porţiuni de tulpină. La *Sagittaria* chiar frunzele submerse pot fi foarte mari pentru ierbar.

Hedera helix L., numită popular iederă, se colectează din păduri umbroase umede de gorun şi fag sau din unele parcuri şi locuri cu condiţii similare. Ea prezintă, în general, două tipuri de frunze. Cele mai frecvente sînt mai mult sau

Scanned with OKEN Scanner

mai puțin deltoide pentalobate, fiind situate în tot lungul tulpinii și ramificațiilor. Numai pe ramul florifer frunzele sînt ovate. Se vor colecta ramuri florifere și sterile și se vor ierboriza.

Morusnigra L., popular, dudul negru, prezintă pe aceeași ramură o heterofilie foarte pronunțată. Frunzele diferă atît prin dimensiuni cît și prin gradul de sectare a limbului. De obicei frunzele din vîrful ramurii sînt mai mici, întregi și de formă ovală. În sens opus frunzele sînt mai mari, cu o accentuată bază cordată a limbului, cu incluziuni mai mari sau mai mici de tip lobat, fidat și chiar partit. Se colectează ramuri tinere care se pot ierboriza, controlînd existența unei heterofilii accentuate.

Colecțiile alcătuite cu plantele citate și alte plante cu heterofilie se vor studia pentru identificarea tipurilor morfologice de frunze în cadrul aceleiași specii. Un ajutor îl poate oferi desenarea conturului frunzelor pe calc. Se vor căuta criterii ferme de recunoaștere a fiecărui tip. Pentru plantele la care există mai mult material foliar se poate realiza o statistică notînd frecvența diferitelor tipuri foliare, în diferite sectoare ale tulpinii (bază, mijloc și zonă de creștere).

O b s e r v a ț i e. Se va evita utilizarea noțiunii de polimorfism pentru desemnarea oricărei forme de manifestare a normei de reacție. Recomandăm citirea atentă a definiției celor două noțiuni cît și studierea lucrării practice privind polimorfismul.

2.1.3. Determinarea variabilității genetice, nongenetice și globale dintre indivizii a două specii diferite

Materiale necesare : frunze de tei din specii diferite colectate de fiecare dată din același arbore în loturi diferite (v. lucrarea practică anterioară), riglă gradată, creion, hîrtie, hîrtie de calc, balanță analitică.

Mod de lucru. Ne propunem să colectăm cîte două loturi de frunze (lot L și lot U) din doi arbori, aparținînd unor specii diferite de tei. Făcînd o astfel de analiză limitată vom înțelege că se vor compara de fapt doi indivizi din specii diferite și nu cele două specii pentru că nu urmărim variabilitatea intraspecifică în fiecare caz. Se poate întîmpla astfel să utilizăm indivizii necaracteristici speciilor din care fac parte în sensul că prezintă valori depărtate de media speciei. Tipul de analiză citat este astfel folositor doar pentru că permite a se forma o imagine generală asupra mărimii diferențelor datorate variabilității nongenetice și variabilității genetice în mod comparativ. Este evident de asemenea faptul că diferențele genetice datorate apartenenței la specii diferite vor putea fi aprioric definite ca semnificative, ținînd seama de statutul definirii speciei. Se poate însă uneori întîmpla ca analiza să se refere la caractere care nu sînt sistematic importante, deci definitorii pentru specie și în acest caz diferențele genetice să fie mai mici decît ne așteptăm.

Dr. Al. Beldie în „Flora R.P.R." volumul VI indică pentru țara noastră șase specii de tei (fiecare cu o largă variabilitate intraspecifică ilustrată prin existența unui număr mare de unități intraspecifice) cît și șapte forme de hibrizi interspecifici mai importanți. Dintre speciile mai des întîlnite cităm :

— *Tilia tomentosa* Mnch sau teiul alb, caracterizat prin peri albi, tomentoși care acoperă fața inferioară a frunzelor (cu excepția nervurilor), pețiolii și lăstarii tineri. Florile au peste 50 de stamine. Mugurii au doi solzi exteriori relativ egali. Este un arbore înalt pînă la 30 m.

Scanned with OKEN Scanner

— *Tilia cordata* Mill. prezintă frunze mici care pe fața inferioară a limbului sînt surii, fără peri (glabre) cu excepția zonei de ramificare a nervurilor unde se întîlnesc peri brun-roșcați. Nervurile de ordinul trei sînt neproeminente și alcătuiesc o rețea. Florile cu petale alburii au sub 40 de stamine. Mugurii au doi solzi exteriori, inegali. Este un arbore mai mic cu lujeri anuali roșcați.

— *Tilia platyphyllos* Scop. posedă frunze cu limb verzui-albicios pe fața inferioară, nervurile în zona de ramificare cu peri. Spre deosebire de specia anterioară nervurile de ordinul trei sînt proeminente și relativ paralele. Florile, cu petale galbene, au mai puțin de 40 de stamine. Este un arbore cu lujerii anuali verzi-măslinii pînă la brun. Mugurii au 3 solzi exteriori. Este un arbore înalt, pînă la 30 m, cu coroana largă.

Se vor alege doi arbori din specii diferite situații în vecinătate și în condiții relativ similare.

Din cei doi arbori se aleg cîte două loturi de frunze ca în lucrarea anterioară. Vom nota cu lot I-L lotul de frunze de la exteriorul coronamentului (luminate) ale speciei I, cu II-L același lot de la specia a doua, cu I-U lotul de frunze umbrite ale speciei I și cu II-U același lot al speciei a doua.

Analiza se va desfășura după modul de lucru indicat la lucrarea anterioară, avînd însă mai multe faze.

1. Se calculează pentru cele patru loturi parametrii statistici esențiali : $\bar{x}$, s^2, C.

2. Se identifică tipul distribuției valorilor prin compararea lui C calculat cu datele standard indicate în capitolul de statistică.

3. Se identifică prin testul d sau t mărimea diferențelor nongenetice pentru individul din specia I și II separat, comparîndu-se de fiecare dată lotul U și L

4. Pe baza aceloraşi teste se identifică mărimea diferențelor genetice între loturile similare ale celor doi arbori din specii diferite. Se realizează astfel comporația lotului I-U cu II-U și a lotului I-L cu II-L.

5. Se identifică diferența globală (genetică și nongenetică însumate) dintre cei doi arbori. În acest scop se calculează media generală, varianța și coeficientul de variație pentru arborele din specia I și din specia II prin utilizarea tuturor valorilor din cele două loturi : (I-U) + (I-L), pentru specia I, și (II-U) + (II-L) pentru specia II. În funcție de mărimea coeficientului de variație se alege testul d sau t și se calculează diferența dintre indivizi.

2.1.4. Determinarea variabilității continui

Materiale necesare : colecție de indivizi ai unei specii (de exemplu, *Capsella bursa-pastoris* L. sau traista-ciobanului), hîrtie, creion, riglă.

Mod de lucru. Se va apela la un număr de exemplare din aceeași specie (de obicei mai mult de 50) colectat în aceeași zi, pentru a evita decalajele de mărime produse pe cale metabolică.

Este indicat a se studia o specie de plantă ierboasă, bine definită sistematic pentru a se evita erorile datorate prelevării în același lot de exemplare din specii diferite. De asemenea este indicat a se studia plante din genuri cu o singură specie în țara noastră și cu o morfologie specifică, ușor de recunoscut. Un astfel de caz este oferit de planta comună *Capsella bursa-pastoris* (L.),

Scanned with OKEN Scanner

popular numită traista ciobanului, plantă ruderală, frecvent întîlnită în livezi, cîmpuri, în spaţiul de lîngă drumuri, iar în oraşe în spaţiile verzi nelucrate sau asupra cărora se execută lucrări parţiale ca de exemplu, plantări de garduri vii limitrofe.

Academician A. Nyarady, în „Flora R.P.R." vol. III, arată că genul este reprezentat printr-o singură specie la noi în ţară cu o variabilitate intraspecifică destul de largă. De exemplu, după morfologia fructului se citează opt unităţi intraspecifice. Planta este anuală sau bianuală cu rădăcină pivotantă şi o singură tulpină, înaltă între 6—60 cm (uneori ramificată).

Obiectul lucrării practice va fi studiul variabilităţii biometrice a tulpinii. Pentru aceasta se vor colecta peste 50 de exemplare prin tăierea cu un foarfece la nivelul solului. Tulpinile astfel obţinute se pot ierboriza, realizîndu-se o colecţie pentru ilustrarea variabilităţii.

Este demn de remarcat faptul că în situaţia de faţă nu se poate discerne cu precizie cît anume din variabilitate este contribuţia cauzelor genetice şi cît este datorat cauzelor nongenetice. Ambele acţiuni sînt prezente, dar în proporţii pe care nu le putem depista cu mijloacele simple prezentate. Planta, prezintă adesea o ramificare a tulpinii, dar acest fapt nu poate fi folosit pentru identificarea variabilităţii genice şi nongenetice.

Caracterul care se urmăreşte este deci lungimea părţii supraterane a plantei care se măsoară cu rigla pentru fiecare exemplar, luînd în consideraţie lungimea cea mai mare. Se mai poate utiliza greutatea supraterană a plantei. Datele obţinute se grupează în clase de valori şi se va aplica calculul mediei şi varianţei prin utilizarea valorilor claselor şi a frecvenţelor corespunzătoare (a se vedea capitolul de statistică).

Distribuţia valorilor lotului se reprezintă sub forma histogramei.

2.1.5. Determinarea variabilităţii discontinui şi a polimorfismului

Materiale necesare : colecţie de cochilii de *Cepaea vindobonensis*, hîrtie, creion.

Mod de lucru. Polimorfismul este o concretizare tipică a manifestării variabilităţii genetice discontinui. Procesul se poate studia în condiţii optime pe cochilii de melci din genul *Cepaea*. Pentru aceasta s-au efectuat analize speciale prin care s-a evidenţiat rolul genetic în determinarea unor caractere, care ţin de culoarea şi desenul cochiliei.

La noi în ţară este certă prezenţa unei singure specii : *Cepaea vindobonensis* Pfeiffer. Pentru exemplificare prezentăm *Cepaea nemoralis* (fig. 53).

Exemplarele se pot colecta din zona de altitudini mici, de cîmpie, pînă la circa 800 m, fiind întîlnite atît în spaţii deschise, de asociaţii ierboase, cît şi în biotopuri umbrite, de pădure, sau intermediare (margini de pădure, tufişuri, livezi etc.). Se caracterizează prin cochilie globuloasă, cu înălţime de 17—18 mm faţă de o lăţime de 20—21 mm, avînd circa 5 anfracte. Se recunoaşte uşor prin prezenţa unei culori de fond galbene, roşii sau maronii pe care sînt marcate de regulă cinci dungi mai închise la culoare. Există o întreagă gamă de manifestări în privinţa dungilor (de la toate prezente pînă la toate lipsă).

Scanned with OKEN Scanner

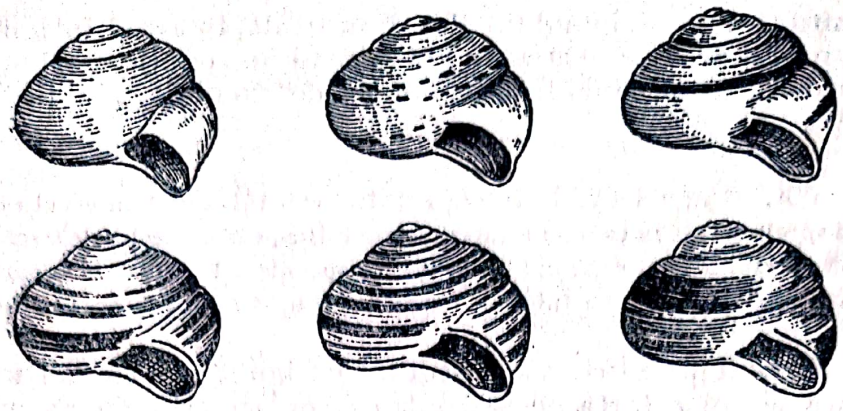


Figura 53. Polimorfismul la Cepaea nemoralis.

Cercetările privind determinarea genetică a polimorfismului la acest gen în privința coloraţiei s-au realizat de către M a x i m e L a m o t t e (1951) în Franţa şi P. M. S h e p p a r d îşi A. J. C a i n în Anglia (1954). Specia studiată, comună în Europa de vest, este *Cepaea nemoralis* L., asemănătoare cu *C. vindobonensis* de la noi în privinţa polimorfismului culorii şi desenului cochiliei.

Cercetătorii citaţi au identificat faptul că nuanţele diferite ale culorii sînt datorate unui proces de trialelism : dominant este brunul (alelă Y^b) faţă de roz (alelă Y) şi acesta faţă de galben (alelă y). Un fenotip Y_y se va manifesta deci fenotipic printr-o cochilie de culoare roz în timp ce altul Y^b_y va fi identificat fenotipic printr-o cochilie brună.

Caracterul privind prezenţa sau absenţa benzilor este determinat genetic, lipsa fiind dominantă. Un alt set de alele este responsabil de poziţia dungilor.

Genele citate (privind culoarea cochiliei, prezenţa sau absenţa dungilor şi a poziţiei lor) sînt legate şi combinaţiile se transmit înlănţuit. În acest fel se accentuează procesul de polimorfism.

Lucrarea practică va avea în vedere numai cochilii bine conservate întrucît la formele moarte cu mult timp înainte stratul suprerficial se exfoliază prin acţiunea agenţilor externi şi face imposibilă recunoaşterea caracterelor citate. În laborator, cochiliile ţinute în cutii la întuneric îşi păstrează desenul şi culoarea timp îndelungat.

Se vor studia două aspecte : recunoaşterea tipului fenotipic şi analiza polimorfismului populaţional.

Recunoaşterea tipului fenotipic se va face prin identificarea iniţială a întregului set de tipuri. Analiza se va referi la două caractere (culoarea şi desenul), cît şi la corelaţia datorată transmiterii înlănţuite.

a. *Tipurile fundamentale din punctul de vedere al culorii* sînt trei : galben (*G*), roz (*R*) şi brun (*B*), avînd următoarele fenotipuri componente :

— fenotipul *G* determinat de un singur genotip (yy) prin recesivitatea alelei caracteristice ;

— fenotipul *R* format din două genotipuri : unul homozigot (yy), celălalt heterozigot (Y_y) ;

— fenotipul *B* alcătuit din trei genotipuri dintre care unul homozigot (Y^bY^b) şi două heterozigote : (Y^bY) şi (Y^b_y).

Încercaţi să explicaţi modul citat de gruparea fenotipurilor pe baza cunoştinţelor de genetică mendeleană privind dominanţa şi recesivitatea. Notaţi cîte cochilii se încadrează în fenotipul *G*, *R* şi *B* proporţional faţă de întregul lot studiat. Alcătuiţi o reprezentare grafică a polimorfismului lotului analizat pentru acest caracter sub forma a trei coloane (*G*, *R* şi *B*), cu bază egală, însă înalte, proporţional cu frecvenţa fenotipului respectiv. Încercaţi să calculaţi frecvenţa alelelor prin corelaţia Hardy-Weinberg (a se vedea capitolul de statistică).

A. J. Cain şi P. M. Sheppard au demonstrat faptul că, în general, există o concordanţă între fenotipul cel mai frecvent şi tipul biotopului. În păduri şi zone umbroase, selecţia naturală favorizează fenotipul *B* în proporţie mai mare, în timp ce în spaţii deschise este favorizat fenotipul *G*.

Concordă rezultatele lucrării practice cu concluziile citate ? În acest scop revedeţi notiţele de teren în legătură cu tipul biotopului din care s-au efectuat colectările.

b. *Tipurile fundamentale din punctul de vedere al benzilor* sînt mai numeroase decît cele privind culoarea. Identificarea lor va fi uşurată dacă adoptăm notaţia utilizată în malacologie (ramură a zoologiei care se ocupă cu studiul moluştelor). Vom nota cu 1, 2, 3, 4, 5 benzile prezente pe ultimul antract, începînd de sus în jos, adică de la sutura cu antractul anterior (mai mic) ; cu zero se va marca banda lipsă, iar cu o liniuţă (deasupra cifrelor corespunzătoare) benzile unite. De exemplu, $\overline{0\,2345}$ înseamnă că prima bandă lipseşte şi se mai evidenţiază numai două : una subţire, reprezentînd banda a doua, şi a doua foarte groasă, rezultată din contopirea benzilor 3, 4 şi 5.

Identificarea determinării genetice a fenotipurilor obţinute este mai dificilă decît pentru colorit din cauza acţiunii simultane a mai multor gene. Ne vom limita analiza la simpla notare a fenotipurilor şi a procentului acestora în lot.

A. J. Cain şi P. M. Sheppard au arătat că în biotopii de pădure (stejar, foioase amestecate, fag) selecţia naturală impune un polimorfism populaţional cu o frecvenţă crescută a fenotipului lipsit total de dungi (peste 40%).

Verificaţi această constatare cît şi eventualitatea frecvenţei sporite a fenotipurilor cu cît mai multe benzi lipsă pentru biotopuri de pădure.

■ **Analiza polimorfismului populaţional** se va realiza pe baza celor două caractere identificate anterior : culoarea şi desenul cochiliei. Din combinarea acestora rezultă un număr destul de mare de fenotipuri.

Analiza se va desfăşura în două etape : de identificare a caracteristicilor individuale şi notarea lor ; a doua, de analiză a corelaţiei celor două caractere.

a. *Etapa de identificare individuală* presupune analiza unui lot de *Cepaea* dintr-un biotop cunoscut. Se va întocmi un tabel în care se vor nota pentru fiecare individ :

— numărul de ordine (notat şi pe cochilie cu tuş pentru recunoaştere) ;

— numărul anfractelor (pentru identificarea stadiului de vîrstă, formele tinere fiind considerate exemplarele cu mai puţin de 3 anfracte) ;

— culoarea de fond (*G*, *R*, *B*) ;

— desenul cochiliei (se observă pe ultimul anfract şi se notează ca mai sus) ;

— observaţii generale (starea cochiliei, eventualitatea existenţei unor raumatisme etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Indivizii, după înregistrare în tabel şi imprimare a numărului de ordine, sînt aşezaţi în cutii etichetate cu locul şi data colectării, numărul de ordine al exemplarelor etc.

b. *Corelaţiile între cele două caractere* se determină prin alcătuirea unui tabel în care coloanele vor reprezenta una dintre cele trei culori de fond, iar rîndurile un tip de desen (după numărul de benzi). Din intersecţia coloanelor cu rîndurile rezultă un număr mare de pătrate, reprezentînd fenotipurile potenţiale. Fiecare individ din colecţie este trecut în pătratul corespunzător tabelelor în care s-au înscris caracterele individuale, notîndu-se numărul de ordine al individului (pentru ulterioare confruntări). Pătratele vor fi suficient de mari pentru a putea cuprinde mai multe numere.

După realizarea tabelei de corelaţie se vor identifica două aspecte cel puţin :

— nu toate fenotipurile posibile (reprezentate prin pătrate) sînt prezente în populaţia analizată ;

— unele fenotipuri sînt mai numeros reprezentate decît altele.

Apare deci necesitatea de a lămuri cauzalitatea manifestării aspectelor relatate. Concluzii preţioase se pot trage dacă biotopul din care s-au colectat exemplarele este cunoscut. În acest scop este necesar ca în momentul colectării să se noteze în carnetul de teren, pe lîngă dată şi loc, următoarele caracteristici ale biotopului :

— asociaţia de plante ;

— gradul de ecranare (se identifică cu ajutorul unei oglinzi împărţite în 10 × 10 pătrate). Se numără cîte pătrate sînt luminate direct de soare, cîte sînt cu lumină difuză şi cîte sînt umbrite. Se repetă determinarea de cîteva ori şi se face o medie.

Aşa cum am mai menţionat, A. J. Cain şi P. M. Sheppard au demonstrat că, în general, polimorfismul bazat pe culoare şi desen la *Cepaea* este utilizat ca un factor de protecţie, fiind mai ales eliminaţi prin selecţie indivizii cu desen şi coloraţie contrastante cu mediul lor de viaţă. Factorul de selecţie este reprezentat prin păsări (ca de exemplu, sturzul cîntător), care sparg cochiliile identificate şi consumă animalul. Existenţa unor cochilii cu urme de refacere indică dacă proporţia lor este semnificativă ; o astfel de activitate, demonstrează că asupra fenotipilor respectivi se exercită o acţiune de eliminare. Dacă proporţia unor astfel de cazuri nu este singulară, se recomandă identificarea fenotipurilor cu atenţie ; în caz contrar, traumatismul poate fi considerat ca întîmplător şi nu oferă informaţii asupra ponderii mai mari sau mai mici a fenotipurilor.

Structura polimorfică a populaţiei nu poate fi însă explicată exclusiv prin acţiunea restrictivă a selecţiei naturale, ci şi prin cea exercitată de driftul genetic. Asupra definiţiei lui şi a altor relaţii, a se vedea lucrarea practică de la pag. 127.

Driftul, în cazul populaţiilor de *Cepaea*, îşi manifestă acţiunea prin intermediul indivizilor migranţi, fondatori de noi populaţii. Pe această cale populaţiile noi se pot dezvolta numeric pornind de la genotipuri în oarecare măsură neconcordante cu cerinţele selecţiei naturale. Neconcordanţa este continuu

Scanned with OKEN Scanner

eliminată fără a se ajunge însă la realizarea unui camunflaj perfect pentru toţi indivizii (în limitele posibile oferite de desen şi culoarea cochiliei), dat fiind că eventual genotipii de eficienţă maximă lipsesc sau sînt proporţional slab reprezentaţi. În primul caz se vor păstra preferenţial fenotipurile care conferă cel mai mult calităţile cerute şi în al doilea, va spori treptat ponderea fenotipurilor de maximă eficienţă. Oricum deci, în momentul efectuării analizei se depistează şi fenotipuri fără o utilitate prezentă.

■ **Analiza statistică a corelaţiilor duble.** Pentru o mai eficientă determinare a corelaţiei dintre două caractere se recurge la analiza statistică a acestui proces. În acest scop se determină coeficientul de corelaţie (r) (a se vedea pag. 149).

Cum se poate aplica această analiză la cazul citat de la *Cepaea* ? Este evident faptul că va trebui să apelăm la un subterfugiu şi anume să cuantificăm fenotipii, adică să-i notăm cu cifrele unei serii succesive în funcţie de o anumită ordine a lor. De exemplu, putem nota fenotipul G cu 1, R cu 2 şi B cu 3. Adică cu cea mai mică valoare s-a notat culoarea de fond cea mai deschisă (galben), valorile acestui caracter, crescînd apoi cu cîte o unitate în funcţie de fenotip. În acest caz, în mod similar, se va nota cu 1 fenotipul cu cele mai puţine dungi, adică acela care are practic desenul cel mai simplu.

Este deci necesar să se stabilească un cod de cuantificare a celor două caractere, care va fi folosit apoi pentru a transforma datele înregistrate (şi notate în tabelul cu date individuale) în valori care se pot introduce în calcul. Se aplică ecuaţia lui r şi se determină gradul de corelare a celor două caractere.

Trebuie să notăm faptul că rezultatele bune ale unei astfel de analize (prin cuantificarea caracterelor) se obţin numai dacă se respectă succesiunea strictă a şirului de valori privind fiecare caracter. De aceea, este necesar a se stabili cu exactitate, mai ales în cazul benzilor, şirul corect de valori cuantificate. De exemplu se poate urma acest cod :

a) patru dungi unite şi una liberă sau lipsă = 1 ;
b) trei dungi unite şi celelalte prezente sau lipsă = 2 ;
c) două dungi unite şi celelalte prezente sau lipsă = 3 ;
d) lipsa unei dungi şi prezenţa celorlalte patru neunite = 4 ;
e) prezenţa tuturor dungilor neunite = 5.

Identificarea unei corelaţii bine evidenţiate între două caractere, rezultată din studierea unui lot suficient de mare de indivizi (circa 50), semnifică manifestarea transmiterii înlănţuite a genelor respective. Evident, o astfel de concluzie trebuie verificată prin metode genetice mai complicate.

Notă : Observaţii privind polimorfismul se pot efectua şi asupra indivizilor de *Drosophila* (diferite mutante) sau cobai (planşa VII).

2.2. ROLUL FACTORILOR EVOLUTIVI ÎN MODIFICAREA VARIABILITĂŢII

Teoria sintetică a evoluţiei consideră că există şase factori majori evolutivi dintre care trei (mutaţiile, recombinările genetice şi migraţiile) sînt generatori de variabilitate, iar ceilalţi trei (driftul, selecţia sexuală şi selecţia naturală) sînt restrictivi. În raport cu toţi ceilalţi cinci, selecţia naturală acţio-

Scanned with OKEN Scanner

nează în sensul realizării concordanței adaptative dintre cerințele mediului și structura genetică a populației și speciei.

Factorii evolutivi modifică de la o generație la alta proporția genelor în populație, proces desemnat prin termenul de evoluție. Definiția sumară citată indică și modul de măsurare a procesului. De obicei, modificările sînt urmărite la cîte un singur caracter sau grup restrîns din cauza dificultății de a se urmări complexul de caractere individual. Mărimea modificărilor realizate prin evoluție se poate desemna prin ecuația de principiu :

$$\Delta q = q_1 - q_0 ;$$

în care q este frecvența alelei A_2, modificarea frecvenței genice (Δq) fiind urmărită între două generații succesive (q_1 față de q_0). Fiecare dintre cei șase factori prezintă o ecuație specifică, iar în situația acțiunii simultane a mai multor factori se realizează o ecuație sumativă.

Realizarea ecuației de principiu a procesului evolutiv este legată de două contribuții majore. Prima, este datorată definirii de către H a r d y și W e i n b e r g (1908) a condițiilor unei populații ideale, care nu evoluează, aflîndu-se în echilibru genetic staționar. A doua, obținută prin contribuția mai multor cercetători (F i s h e r, H a l d a n e, W r i g h t, F o r d, F a l c o n e r etc.) se referă la cuantificarea procesului evolutiv sub forma unor ecuații specifice. R. F i s h e r este primul cercetător cu un aport în elaborarea teoriei matematice a selecției naturale.

Definiții și prezentări statistice succinte pentru cei șase factori evolutivi pot fi găsite în cadrul capitolului de statistică.

2.2.1. Modelarea acțiunii factorilor generatori de variabilitate (MODELARE SIMPLEX, M. T U F E S C U)

Materiale necesare : două cutii lungi de circa 35 cm, trei seturi de cîte 200 bile de culori diferite (diametrul unei bile este preferabil a fi de 1,5 mm), creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Se va simula modificarea structurii genetice a unei populații sub acțiunea mutațiilor, recombinărilor genetice și migrațiilor (factori generatori de variabilitate) în condițiile urmăririi a două alele și trei genotipuri. Vor exista deci trei culori de bile : N (negru — genotip A_1A_1), R (roșu — genotip A_1A_2, heterozigot), A (alb — genotip A_2A_2).

Se va lua în considerație numai acțiunea mutațiilor recurente (mutații cu o rată stabilă pe generație și cu o frecvență ridicată). Mutațiile recurente sînt ireversibile (modificarea alelei sălbatice într-o alelă nouă) și reversibile (modificarea alelei sălbatice într-o alelă nouă și invers). Pentru a nu complica procesul modelării ne vom referi numai la mutații ireversibile ($A_1 \rightarrow A_2$).

Întrucît migrația este alcătuită din două procese complementare (imigrația sau venirea în populație a indivizilor din alte populații și emigrația — plecarea unui număr de indivizi din populație), în cadrul simulării va fi cuprins doar unul dintre acestea, celălalt avînd un mod de manifestare simetric. Modelarea va cuprinde exclusiv procesul imigrării.

Ca și în cazul altor simulări și în situația de față prezentarea se va referi la o succesiune de reguli ce trebuie respectate.

1) *Regula stratului specific.* Pentru început se compune populația simulată, pornind de la proporțiile mendeleene : 25 N + 50 R + 25 A. În cutie se intro-

Scanned with OKEN Scanner

duce cantitatea de bile citată pentru cele trei categorii de culori. Astfel, se obțin proporții egale pentru cele două alele : $p = 0,5$ și $q = 0,5$. Raportul între genotipuri este însă relativ nenatural pentru că proporțiile mendeleene sînt modificate în fiecare populație prin acțiunea factorilor evolutivi. Pentru a identifica însă rolul factorilor evolutivi situația este propice întrucît începutul acțiunii lor și activitatea de măsurare a influenței lor sînt paralele și simultane.

2) *Regula ratei specifice a mutațiilor.* Rata mutațiilor reprezintă proporția de indivizi normali la un individ mutant într-o generație. Mutațiile pe care le urmărim sînt realizate prin modificarea alelei A_1 în A_2. Vom considera că rata producerii acestui proces este de 1% adică $u = 0,01$. În mod practic, după stabilirea populației de bile, se schimbă o bilă N cu una R sau una R cu una A. Pentru fiecare generație se procedează similar.

3) *Regula presiunii specifice a imigrației.* Presiunea imigrației se măsoară prin doi parametri : m și q_m. Rata imigrației (m) reprezintă proporția de indivizi imigranți față de totalul populației nou formate (imigranți plus autohtoni). Apare foarte clar faptul că imigrarea acționează cu un factor evolutiv numai dacă proporțiile unei alele în lotul de indivizi imigranți și în populația în care aceștia vin nu sînt identice. De exemplu, pentru alela A_2, proporția ei în populația studiată (q_0) trebuie să fie diferită de proporția ei în lotul de imigranți (q_m). Prin q_m se desemnează raportul între numărul de alele A_2 și numărul total de alele pentru locusul respectiv ($A_1 + A_2$ în exemplul pe care îl urmăm) în cadrul lotului de imigranți.

Din punct de vedere practic, se vor introduce în cutie, în fiecare generație, cîte 20 de bile în proporția : $8\ N + 8\ R + 4\ A$. Se realizează astfel un raport $q_m = 0,4$ și o rată a imigrațiilor $m = 0,1667$ sau 16,67%.

4) *Regula cuplurilor întîmplătoare.* Populația de bile realizată după acțiunea mutației și imigrației trebuie amestecată și obținut cupluri întîmplătoare de indivizi. În sistemul simulării pe care îl propunem considerăm că nu acționează preferențiabilitatea reproductivă (selecția sexuală).

Practic, se pune capacul cutiei și aceasta se mișcă circular ceea ce permite un amestec al bilelor. După efectuarea cîtorva cicluri cutia este oprită și se înclină pe o latură pentru așezarea bilelor pe un singur șir. Se deschide capacul și se „citesc" cuplurile de la stînga spre dreapta, separînd de fiecare dată cîte două bile pentru un cuplu.

5) *Regula natalității specifice.* Informația obținută prin formarea cuplurilor se traduce în alcătuirea noii generații. Pentru simplificare, presupunem că toți indivizii dispar după reproducere, iar populația este astfel formată de fiecare dată exclusiv dintr-o singură generație de indivizi. Cu același scop considerăm că un cuplu de doi indivizi reproducători dă naștere exclusiv la doi descendenți. Această prevedere face ca populația de bile să fie staționară numeric.

6) *Regula descendenței specifice.* Cele trei categorii de bile (N, R, A) prin combinare două cîte două pot forma șase tipuri de cupluri. Pe baza principiilor mendeleene, înlocuirea lor se realizează astfel în descendență :

(1) $NN \rightarrow NN$ (4) $NR \rightarrow NR$

(2) $AA \rightarrow AA$ (5) $NA \rightarrow RR$

(3) $RA \rightarrow RA$ (6) $RR \rightarrow NA$

Scanned with OKEN Scanner

Practic, cu mîna stîngă, se detaşează pe rînd cîte un cuplu de bile din şirul format în cutie după amestec. Lîngă cutie se află pregătit un formular cu şase coloane, avînd marcate cele şase categorii de cupluri posibile. Pe măsură ce se identifică cuplurile, ele sînt trecute în formular, fiecare cuplu fiind notat în coloana respectivă prin cîte o linie. După identificarea întregului şir se calculează totalul pentru fiecare din cele şase categorii de cupluri. Pe baza acestor date se alcătuieşte structura populaţiei după o generaţie. În acest scop, în cutia liberă se introduce numărul de bile corespunzător fiecărei culori.

Dintre cele şase categorii de cupluri, patru se înlocuiesc fără modificări (*NN*, *AA*, *RA*, *NR*) şi numai două se transformă în descendenţă : *NA* şi *RR*. Cuplul *NA*, prin combinarea a două genotipuri homozigote diferite ($A_1A_1 \times \times A_2A_2$), este înlocuit în descendenţă printr-un cuplu, *RR*, reprezentat prin doi indivizi heterozigoţi. Celălalt cuplu, *RR*, format din doi indivizi heterozigoţi, este posibil să producă în descendenţă toate cele trei categorii de indivizi în proporţia mendeleeană : 1 *N* : 2 *R* : 1 *A*. Descendenţa este incertă, deoarece regula natalităţii impune ca un cuplu de indivizi să producă doar doi descendenţi. Dacă ar fi fost patru, în cutie s-ar introduce cele trei categorii de bile în proporţia citată de M e n d e l $1 + 2 + 1 = 4$. Înlocuirea unui cuplu după o generaţie cu patru descendenţi ar dubla însă populaţia de bile, îngreuind modelarea.

Respectăm deci regula natalităţii de doi descendenţi la un cuplu pentru considerentul arătat. În acest cuplu *RR* poate fi înlocuit de oricare dintre cele şase categorii de cupluri la întîmplare. Există cel puţin două posibilităţi practice de simulare a procesului : alegerea întîmplătoare prin utilizarea zarurilor ; alegerea pe bază de tabele randomizate.

Alegerea întîmplătoare prin utilizarea zarurilor se poate realiza considerînd numărul 1 drept *N*, 2 şi 3 drept *R* şi 4 drept *A*. Se aruncă două zaruri pentru un cuplu. De exemplu, se obţin numerele 2 şi 5. În cutie se introduce o bilă *R*, pentru numărul 2. Al doilea număr nu are reprezentare ; zarul se aruncă din nou pînă la obţinerea unui număr semnificativ. Nu se pot folosi toate cele şase feţe ale unui zar pentru că este necesar a se respecta proporţia mendeleeană 1 : 2 : 1 între genotipuri, heterozigoţii fiind de două ori mai numeroşi decît fiecare tip de homozigoţi. Or, cele şase feţe nu se pot împărţi proporţional cu această cerinţă decît excluzînd două feţe (respectiv numere).

Se pot construi zaruri speciale piramidale, cu patru feţe care uşurează munca. Trebuie însă să remarcăm că procedeul utilizării zarurilor, chiar special construite, îngreuiază mult modelarea, ritmul de lucru fiind încetinit. De exemplu, dacă se identifică 20 cupluri *RR* sînt necesare 20 de aruncări ale celor două zaruri. La fiecare aruncare intervin apoi citirea şi omologarea numerelor cît şi eventuale repetări (pentru zaruri obişnuite). Timpul necesar realizării unei generaţii devine astfel foarte lung. Recomandăm deci al doilea procedeu care este mai eficace.

Alegerea prin utilizatrea tabelelor randomizate. Randomizat înseamnă întîmplător. Putem alcătui astfel de tabele foarte simplu prin folosirea zarurilor în modul citat. Prezentăm mai jos un tabel de distribuţie randomică a cuplurilor, ţinînd seama de probabilităţile specifice :

Diferenţele faţă de probabilităţile calculate au fost controlate prin testul χ^2 atît pentru cele trei genotipuri cît şi pentru cele şase tipuri de cupluri.

Scanned with OKEN Scanner

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	RR	AR	NR	RA	NN	AN	AN	NN	AR	NA
2	NR	NR	AR	RN	RR	RR	AR	RR	RN	NR
3	RR	RN	NA	RR	RA	RA	NR	AR	RA	AR
4	RA	NA	NR	NR	AR	AA	RA	AR	RR	NR
5	AN	RA	RA	RR	RN	NR	RA	RA	NA	AN
6	AA	RN	NR	RR	AR	RR	RR	AR	NR	NR
7	AR	RN	RR	RR	AA	RN	RR	AA	RN	NR
8	AN	RR	NR	RA	NA	NR	AA	AA	AR	NR
9	RR	AR	RN	RR	RR	RR	NR	AN	AA	RR
10	RR	RR	RR	AR	RR	NN	AN	AN	NR	RN
11	NN	RA	NR	RA	AA	RR	RR	RA	NR	RA
12	NR	RR	RA	RR	RR	RR	RR	RN	RR	RR
13	RR	RR	NA	RN	NR	NA	AN	RN	AR	NA
14	NA	RN	RR	RN	RN	AR	RA	NR	NA	AR
15	NN	RR	AR	NN	RN	RA	AA	RA	AR	RA

Diferențele s-au dovedit nesemnificative. Tabelul este realizat prin utilizarea distribuției întîmplătoare a 10 000 de numere prezentată de către G. W. Snedecor (1968).

Folosirea tabelului este simplă. Se începe cu o căsuță arbitrar aleasă. De exemplu, căsuța din coloana 2 rîndul 1 în care figurează cuplul *AR*. Se identifică în formularul de lucru numărul de cupluri *RR*. Să considerăm că sînt totalizate 15. Cele 15 cupluri *RR* vor fi înlocuite în noua generație cu 15 cupluri din tabel, pornind cu primul ales întîmplător (în cazul citat acesta fiind în coloana 2 rîndul 1) și urmînd apoi succesiunea indicată de tabel. Se vor introduce astfel în cutie cuplurile : *AR*, *NR*, *RA*.... Ultimul din rîndul unu este NA. Se continuă apoi cu NR, primul din rîndul doi și așa mai departe pînă la completarea numărului de 15.

7) *Regula procentualizării*. În momentele anterioare s-au realizat următoarele procese : s-a format o populație din 100 de bile alcătuită din trei genotipuri (*N*, *R*, *A*), s-a înlocuit o bilă reprezentînd rata mutației, s-au adăugat 20 de bile, reprezentînd rata imigrației, cele 120 de bile au fost grupate întîmplător, formînd 60 de cupluri. Pe baza celor 60 de cupluri parentale s-a alcătuit noua generație, respectînd regula descendenței. Se obține astfel noua populație (după o generație) alcătuită din 120 de indivizi. Pentru a păstra și în continuare identice rata mutațiilor și rata imigrației există două strategii : a se recalcula ratele pentru 120 de indivizi față de 100 cîte erau inițial ;

— a se reduce proporțional populația simultană de la 120 la 100 cea ce permite folosirea acelorași rate.

Prima soluție este mai dificil de a se urma din două puncte de vedere. În primul rînd, populația modelată crește în fiecare generație numeric (prin imigrație) ceea ce face ca modelul să fie în scurtă vreme dificil de utilizat. În al doilea rînd, fiecare generație implică recalcularea ratelor, rezultatul constînd în sporirea duratei de lucru pentru obținerea rezultatului.

Cea de a doua soluție pare mai convenabilă deși implică, la rîndul ei, acțiunea de reducere la o sută (sau de procentualizare) a genotipurilor populației.

Procentualizarea se bazează pe un calcul realizat în două etape : identificarea procentului fiecărui genotip din populație și ajustarea proporțională a celor trei categorii de bile (*A*, *R*, *N*), din punct de vedere numeric.

Scanned with OKEN Scanner

Identificarea procentului pentru cele trei genotipuri se realizează printr-o nouă numărare a celor trei categorii de bile (N, R, A) și notarea valorilor în formular. Operația de numărare a 120 de bile în total implică un volum mare de muncă, ținînd seama că se repetă la fiecare generație. Procesul poate fi simplificat în două moduri pe care le vom nota cu A și B.

A. Așa cum s-a arătat, doar descendenții unui cuplu (RR) sînt imprevizibili, fiind aleși pe bază de șansă (prin utilizare a tabelului randomizat). Acești descendenți nu se vor introduce în cutia în care se află și ceilați descendenți ci, provizoriu într-o altă cutie. În acest moment vor fi pe masă trei cutii : una cu populația parentală, a doua cu descendenții previzibili (din cele 5 categorii de cupluri parentale : NN, AA, RA, NR, NA) și a treia cu descendenții imprevizibili (cei ai cuplului RR). În cutia cu descendenți previzibili proporția fiecăruia din cei trei genotipi (N, R, A) este cunoscută. Valorile se obțin din formularul de lucru în care s-a notat numărul de cupluri pentru fiecare din cele șase categorii. Dacă notăm cu C_1, $C_2 \ldots C_5$ numărul celor cinci categorii de cupluri previzibile, în ordinea menționată la regula descendenței, atunci numărul (nr.) de bile diu cele trei categorii (N, R, A) în descendență se calculează astfel :

$$\text{nr. } (N) = 2 \times C_1 + C_4 + (N)'$$

$$\text{nr. } (R) = C_3 + C_4 + 2\ C_5 + (R)'$$

$$\text{nr. } (A) = 2 \times C_2 + C_3 + (A)'$$

în care se notează : $(N)'$ — numărul de bile negre, $(R)'$ — roșii și $(A)'$ — albe din cutia cu descendența imprevizibilă. Aceste valori se obțin prin înlocuirea cuplurilor RR prin tot atîtea cupluri din tabelul randomizat.

Exemplu : $C_1 = 20$, $C_2 = 13$, $C_3 = 8$, $C_4 = 10$, $C_5 = 4$,

$(N)' = 2$, $(R)' = 6$, $(A)' = 2$.

Calculul se realizează astfel :

$$\text{nr. } (N) = 2 \times 20 + 10 + 2 = 52$$

$$\text{nr. } (R) = 8 + 10 + 2 \times 4 + 6 = 32$$

$$\text{nr. } (A) = 2 \times 13 + 8 + 2 = 36$$

$$\text{total : } = 120$$

Soluția aceasta de calcul presupune, prin urmare, numărarea doar parțială a populației de bile, și anume a descendenților cuplului RR (imprevizibili). Celelalte date se obțin din formularul de lucru, pe baza statisticii efectuate anterior.

Scanned with OKEN Scanner

B. A doua strategie de calcul a celor trei genotipuri în populație este avantajoasă în momentul în care numărul întrunit de bilele din două culori este mic, de regulă pînă la 20. Practic, în cutia cu descendenții previzibili și în cutia cu descendenții imprevizibili se va observa dominarea netă a bilelor de o singură culoare, celelalte două categorii fiind rare, pierdute în mulțimea celor din prima culoare. În acest caz, se numără și se înregistrează bilele din cele două categorii minoritare. Numărul de bile pentru a treia categorie se obține prin scăderea totalului celor două din 120.

Situațiile propice pentru o astfel de soluție sînt însă mai rare, recomandabilă pentru toate cazurile fiind strategia A.

Calculul procentului celor trei genotipuri, cunoscînd numărul de bile ce le revin cît și numărul total (120), se execută apoi pe baza ecuațiilor de mai jos :

$$N\% = \frac{\text{nr. } (N)}{120} \cdot 100 = \frac{\text{nr. } (N)}{1{,}2};$$

$$R\% = \frac{\text{nr. } (R)}{120} \cdot 100 = \frac{\text{nr. } (R)}{1{,}2};$$

$$A\% = \frac{\text{nr. } (A)}{120} \cdot 100 = \frac{\text{nr. } (A)}{1{,}2}.$$

Pentru exemplul citat se vor obține rezultatele :
$N\% = 52/1{,}2 = 43, 33\%$; $R\% = 32/1{,}2 = 26{,}66\%$; $A\% = 36/1{,}2 = 30\%$.

Este evident faptul că în cele mai multe cazuri nu se obțin procente reprezentate prin numere întregi. Se impune deci a se rotunji rezultatele deoarece nu se poate lucra cu fracțiuni de individ ; în modelarea utilizată un procent reprezintă un individ. Rotunjirea procentelor se realizează în conformitate cu indicațiile de la pag. 153

Reducerea descendenței la o sută de indivizi se realizează prin cunoașterea valorilor numerice și procentuale (rotunjite) pentru fiecare genotip. Excedentul de bile peste valoarea procentuală rotunjită este scos din cutia descendenților, iar diferența în minus este completată pentru fiecare genotip în parte. Prima cerință care trebuie respectată în acest caz este de a se grupa toate bilele împreună prin introducerea descendenților cuplului RR (imprevizibili) în cutia descendenților previzibili.

Se calculează apoi diferența (d), semnul plus (+) indicînd extragerea, iar semnul minus (—) adăugarea a tot atîtea bile pentru culoarea respectivă :

$$\text{d}(N) = \text{nr. } (N) - N\%$$
$$\text{d}(R) = \text{nr. } (R) - R\%$$
$$\text{d}(A) = \text{nr. } (A) - A\%.$$

În exemplul citat se obțin următoarele valori :

$$\text{d}(N) = 52 - 43 = 9$$
$$\text{d}(R) = 32 - 27 = 5$$
$$\text{d}(A) = 36 - 30 = 6$$
$$\text{total} = 20$$

Scanned with OKEN Scanner

Deci, se vor scoate din cutia descendenților nouă bile albe (N), cinci bile roșii (R) și șase bile negre (A). Totalul lor reprezintă 20, adică surplusul peste 100 al indivizilor populației.

O b s e r v a ț i i. Regula startului se aplică doar pentru formarea populației, ulterior, în fiecare generație, succedîndu-se regulile (și în același timp etapele de simulare) numerotate cu 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Modelarea, cu datele prezentate, a fost concepută pentru urmărirea acțiunii finite a factorilor evolutivi generatori de variabilitate. Acțiunea este finită pentru că, în medie, după circa șase generații se atinge o valoare $\hat{q}$ care rămîne constantă, reprezentînd frecvența de echilibru a alelei A_2 (în mod similar se atinge și o valoare $\hat{p}$ pentru A_1). Atingerea valorii $\hat{q}$ se realizează prin acțiunea contrară a celor doi factori activi care generează variabilitatea : mutațiile și migrațiile. În modelare s-a prevăzut un proces de mutație ireversibilă, generator de alele A_2, și un proces de imigrație, în care frecvența alelei A_2 este constant mai mică în rîndul imigranților decît în populație ($q_m > q_0$), ceea ce are ca rezultat o scădere a frecvenței acestei alele. Combinate cele două procese conduc cîte o frecvență de echilibru.

Trebuie să remarcăm că înlocuirea unei bile N printr-o bilă R nu semnifică constant o rată de 0,01 a mutației. Ea este dependentă de frecvența alelei A_1. Astfel dacă la $p = 0,5$, rata este de 0,01 ; la $p = 0,496$ rata va fi de 0,010101 deci va crește. Pentru a menține o rată constantă se dau indicații la capitolul de statistică.

Simularea modificărilor genetice pentru o populație, produse de acțiunea factorilor evolutivi pînă la o valoare de echilibru este interesantă didactic pentru că se poate constata lipsa de modificare după o anumită generație, adică atingerea stării de echilibru.

Recomandăm, ca, după ce se atinge această stare de către populația modelată, să se utilizeze formularul, cu datele înregistrate, pentru interpretarea modificărilor.

Cel mai simplu și mai expresiv mod de interpretare constă în alcătuirea unui grafic în care pe abscisă se notează timpul (în generații, respectiv 1, 2, 3...n), iar pe ordonată q.

Observați evoluția lui q : ce formă are graficul ? Puteți explica de ce se prezină astfel ?

Un al doilea grafic se poate obține prin înscrierea pe abscisă a valorilor q, iar pe ordonată a varilor Δ q.

Observați faptul că, cu cît valoarea q se apropie de q_m, mărimea lui Δq scade. Interpretarea cantitativă a datelor se poate realiza după indicațiile din capitolul de statistică.

Încercați să realizați și alte variante ale modelării. De exemplu, la regula cuplurilor întîmplătoare introduceți următoarea corecție : după formarea șirului de cupluri extrageți din cutie primele 20 de bile care vor fi considerate indivizi emigranți (egali cu imigranții numeric). Urmăriți în acest fel modul cum se modifică proporția între alele și genotipuri sub acțiunea unui proces complex al migrației. Dacă numărul de imigranți și emigranți este egal, regula procentualizării devine inutilă.

Scanned with OKEN Scanner

2.2.2. Modelarea acțiunii driftului genetic de diversificare a populațiilor mici (modelare MoCaS, M. TUFESCU)

Materiale necesare : două cutii lungi de circa 15—17 cm, trei seturi de cîte 16 bile de culori diferite (diametrul unei bile este preferabil a fi de 1,5 mm), creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Acțiunea driftului genetic se manifestă ca o evoluție prin șansă a populației, adică prin modificarea imprevizibilă a frecvenței mici. Influența driftului este prezentă deci în populațiile cu număr mic de indivizi, ca și în populații mari compartimentate reproductiv. În ambele cazuri numărul mic de indivizi nu permite o reprezentare statistică a fiecărui genotip. Este similară situația extragerilor numerelor cîștigătoare la loto. Dacă s-ar extrage 90 din urnă, ar fi reprezentate toate numerele dar se extrage un număr mult mai mic, ceea ce poate fi asemănat cu o populație mică sau un compartiment al unei populații mari. În acest fel modificările sînt relativ mari de la o generație la alta, rezultatul, fiind concretizat în diversificarea populațiilor mici sau a compartimentelor respective pentru populațiile mari. Statistic, valoarea medie a unui caracter genetic pe ansamblul tuturor acestor unități mici demografice rămîne constant, pe parcursul evoluției lor. Ceea ce se modifică este media pentru fiecare unitate. Acest proces se traduce printr-o îndepărtare, tot mai accentuată, a valorilor unităților demografice față de media de ansamblu. „Risipirea" valorilor se poate înregistra sub forma unei varianțe (s^2) crescute. (Noțiunile de medie și varianță sînt prezentate în cadrul capitolului 2.3.1.)

Prin urmare, acțiunea driftului se poate înregistra prin urmărirea evoluției genetice a mai multor populații mici. Mărimea acestei acțiuni este dată de valoarea varianței, reprezentînd suma pătratelor abaterilor valorilor fiecărei populații mici față de media comună, împărțită la numărul de populații minus o unitate.

Vom enumera mai jos regulile modelării în ordinea în care intervin.

1) *Regula startului mendeleean.* Unitatea de lucru va fi o micropopulație alcătuită din opt indivizi care se încadrată în trei genotipuri formate din două alele. Raportul între genotipuri la începutul modelării este cel prevăzut de M e n d e l : 1 : 2 : 1. Se vor utiliza trei categorii de bile diferite din punctul de vedere al culorii pentru cele trei genotipuri : negre (N), pentru homozigotul A_1A_1 ; roșii (R) pentru heterozigot (A_1A_2) și albe (A) pentru homozigotul A_2A_2. Se va porni de la o populație alcătuită din $2N+4R+2A$. S-a impus existența minimă a cîte doi indivizi pentru genotipurile homozigote pentru a se permite realizarea cuplurilor între indivizii din fiecare tip homozigot ; la o proporție 1 : 2 : 1 s-ar exclude cuplurile AA și NN.

2) *Regula cuplurilor întîmplătoare.* Micropopulația de opt bile se introduce în cutie, se pune capacul, iar cutia este supusă unor mișcări circulare pentru amestecul bilelor. Cutia este oprită. după cîteva cicluri, și întoarsă pe o latură pentru ca bilele să se așeze într-un singur șir. Se scoate capacul și se recunosc cuplurile. Este posibil să se formeze șase tipuri de cupluri pe care le putem grupa în două mari categorii :

Scanned with OKEN Scanner

A. Cupluri cu descendenţă previzibilă pentru un singur individ : $NN \rightarrow N$; $AA \rightarrow A$; $NA \rightarrow R$.

B. Cupluri cu descendenţă imprevizibilă pentru un singur individ : RA ; NR ; RR.

Din încrucişarea între un genotip R şi un genotip N rezultă o descendenţă 50% R şi 50% N ; similar $R \times A = 50\%\ R + 50\%\ A$. Deci, în descendenţă, există o probabilitate egală de apariţie a unui genotip din două posibile. Pentru descendenţa cuplurilor NR şi RA se poate astfel apela fie la aruncarea unei monede cu selecţia întîmplătoare a unei feţe, fie la tabele randomice. Prezentăm mai jos cele două tabele necesare condensate într-unul singur. Notăm cu R descendenţii de tip heterozigot, iar cu liniuţă genotipii N sau A la alegere.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	–	R	R	–	R	R	R	–	–	R	–	–	–	R	–	–	R	–	R	–
2	R	–	R	–	–	–	–	R	R	–	R	–	–	–	R	R	–	R	R	–
3	–	–	–	R	R	R	R	–	R	R	–	R	R	R	R	R	R	R	R	–
4	–	R	R	R	–	–	–	R	R	R	R	R	R	–	–	–	–	R	R	–
5	R	R	R	R	–	–	R	R	R	–	R	R	–	–	R	–	–	R	–	–
6	R	R	R	R	–	–	–	R	R	–	–	–	–	R	–	–	R	R	–	R
7	R	–	R	–	–	–	R	R	–	–	R	R	–	–	R	R	–	–	–	R
8	R	–	–	–	R	R	R	R	R	–	R	R	–	R	–	–	R	R	–	R
9	R	R	–	–	R	–	R	–	R	R	R	–	–	–	R	–	–	–	–	–
10	–	R	–	–	–	–	R	R	–	–	–	–	R	–	R	R	R	R	–	R
11	–	–	–	–	R	R	–	–	–	–	–	–	–	–	–	R	R	R	R	–
12	R	R	R	–	–	–	–	R	R	R	–	R	R	–	R	–	R	–	–	R
13	R	–	R	R	–	R	–	R	R	R	R	–	–	R	–	–	–	–	R	–
14	R	R	R	R	R	–	R	–	R	R	R	–	R	R	R	–	–	–	R	R
15	R	–	–	R	R	R	–	R	R	R	–	–	–	–	–	R	R	–	R	R
16	–	–	–	R	R	–	–	–	–	R	–	R	R	–	R	–	R	–	R	–
17	R	R	–	–	–	R	R	–	R	–	R	R	–	–	–	R	–	R	–	R
18	–	–	–	–	–	R	R	R	–	–	–	R	–	R	R	–	–	R	R	R
19	–	R	–	R	R	R	R	R	–	R	R	R	–	R	–	–	–	R	R	–
20	–	–	R	–	–	–	–	R	R	R	–	R	–	–	–	R	–	R	R	–

Tabelul este realizat pe baza tabelului de 10 000 de numere întîmplătoare a lui G. W. Snedecor. Proporţia de 50% R faţă de 50% N (sau respectiv A) este respectată, diferenţele nefiind semnificative (prin testare χ^2).

Pentru descendenţa cuplului RR se va utiliza tabelul de la regula descendenţei (6) (v. pag. 123).

Regula cuplurilor cu manifestarea imprevizibilă a descendenţei (realizată cu ajutorul tabelelor pentru descendenţa imprevizibilă) *reprezintă o primă modalitate de acţiune a driftului genetic simulată în cadrul modelării.*

Pentru uşurarea lucrării practice se va realiza un formular care va cuprinde cinci coloane cîte una pentru genotipurile N, R, A cît şi pentru proporţia genelor A_1 şi A_2 în micropopulaţie. În fiecare generaţie se va nota numărul de bile N, R, A din populaţie cît şi numărul de gene A_1 şi A_2, ştiind că :

nr. $(A)_1 = 2(A) + (R)$

nr. $(A)_2 = 2(N) + (R)$.

Coloanele vor trebui să fie suficient de late pentru a permite a se nota în partea stîngă numărul, iar în partea dreaptă procentul (%).

Scanned with OKEN Scanner

Prezentăm mai jos un exemplu de evoluție a unei micropopulații modelate pe parcurs de 10 generații pornind de la o proporție mendeleeană (regula startului) pentru a se ilustra modul de alcătuire a formularului :

Generația	N	R	A	P	Q
1	2 0,250	4 0,500	2 0,250	4 0,5000	4 0,5000
2	1 0,125	7 0,875	0 0,000	4,5 0,5625	3,5 0,4375
3	2 0,250	5 0,625	1 0,125	4,5 0,5625	3,5 0,4375
.	.....	.....	.....	.....	.....
10	3 0,375	2 0,250	3 0,375	4 0,5000	4 0,5000

Practic, pentru fiecare generație, după ce bilele s-au amestecat și s-au așezat pe un singur șir, se notează în formular numărul de bile *N*, *R* și *A*. Calculul proporției genotipilor, a numărului și proporției celor două alele este mai comod a se efectua după încheierea modelării.

3) *Regula natalității diferențiate* permite a se modela a doua modalitate de acțiune a driftului genetic. Concret ea se manifestă printr-un număr diferit de descendenți de la un cuplu la altul. Este evident faptul că în acest fel se exclud din descendență un număr de genotipuri posibile și se schimbă raportul dintre acestea. Modificarea acestui raport îl face imprevizibil într-o oarecare măsură.

Ținînd seama de faptul că s-a propus simularea unei micropopulații de opt indivizi se va determina un raport de natalitate diferențiat pentru cele patru cupluri, care însă să conducă la totalizarea a opt descendenți. Practic cele patru cupluri, orînduite de la stînga la dreapta în șir ocupă locuri diferite în această succesiune de la unu la patru. Pentru a desemna descendența se poate propune deci succesiunea a patru cifre diferite care totalizate să însumeze valoarea opt. Propunem următoarele valori : 0, 1, 3, 4. În acest fel, primul cuplu nu va avea urmași, al doilea numai unul, al treilea — trei și al patrulea — patru.

În acest fel, după ce s-a notat în formular numărul de bile *N*, *R* și *A* pentru generația parentală, se introduce, într-o cutie goală, un număr corespunzător de bile pentru fiecare culoare, în funcție de descendența desemnată prin regula anterioară și de numărul specific cuplului după locul pe care-l ocupă în succesiune. De exemplu, cuplurile : *RA*, *NN*, *NA*, *RR* vor forma următoarea descendență : *N*, *R*, *R*, *R*, *R*, *R*, *A*, *R*. Pentru primul cuplu nu s-a introdus nici o bilă, pentru cuplul doi (*NN*) — un singur descendent *N*, pentru cuplul trei (*NA*) — trei descendenți *R*, pentru cuplul patru, care este heterozigot *RR*, s-au introdus bilele : *R*, *R*, *A*, *R*, adică pentru bile desemnate de tabelul randomic de la lucrarea practică 2.2.1. Deși cuplul patru este heterozigot și, prin locul pe care-l ocupă are o descendență de patru indivizi, nu se respectă proporționalitatea mendeleeană 1 : 2 : 1, tocmai pentru că se modelează acțiunea driftului. Este lesne de înțeles acest fapt dacă ne gîndim la numărul foarte variabil de băieți și fete pe care îi are un cuplu uman. Teoretic, ar trebui că 50% să fie băieți și 50% să fie fete, așa cum este desemnat de regulile genetice. În realitate, multe familii nu au copii sau în altele sînt numai băieți sau

Scanned with OKEN Scanner

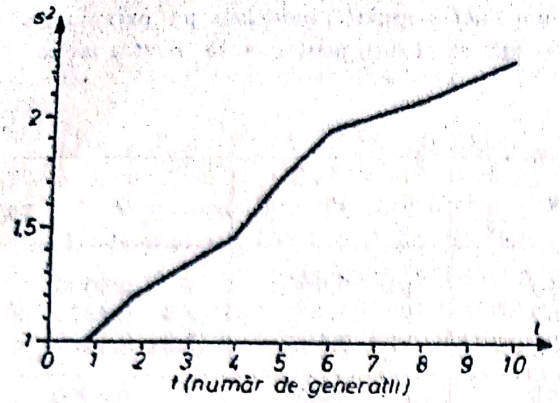


Figura 54. Modelarea MoCaS a efectului driftului genetic asupra a 20 de populații mici în zece generații. Se observă creșterea valorii varianței reprezentînd gradul de împrăștiere a valorilor lui.

numai fete sau numai un băiat sau o fată etc. Sînt, este drept, și familii în care există un băiat și o fată, respectîndu-se proporția teoretică. Diferențele citate mai sus sînt datorate acțiunii driftului genetic.

4) *Regula studierii în paralel a mai multor micropopulații.* O micropopulație este urmărită minim pe parcursul a 10 generații. În paralel însă se impune a se studia evoluția și a altor micropopulații. Cu cît numărul lor este mai mare, cu atît modelarea se apropie tot mai mult de îndeplinirea următoarelor două deziderate :

— frecvența medie a alelei A_1 sau A_2 pe ansamblul tuturor micropopulațiilor este 50% ;

— varianța (s^2) frecvenței medii a micropopulațiilor față de frecvența medie pe total crește treptat de la o generație la alta.

Propunem ca modelarea să se desfășoare în paralel minimum pe 20 de micropopulații pe parcursul a 10 generații. Rezultatele, înscrise în formulare, sînt utilizate apoi pentru calculul evoluției frecvenței medii ($\bar{q}$) și varianței (s^2). Ecuațiile celor doi parametri statistici și alte indicații se găsesc în cadrul capitolului de statistică.

O b s e r v a ț i i. Interpretarea rezultatelor se va efectua după alcătuirea de grafice care să ilustreze procesul de împrăștiere a valorilor micropopulațiilor față de media comună, de la o generație la alta. În acest scop, se va realiza graficul privind evoluția varianței (valori înscrise pe ordonată) în funcție de timp (pe abscisă, exprimat în generații). În figura 54 se prezintă un exemplu. Un alt tip de grafic, care ilustrează aceleași probe prezintă pe abscisă frecvența alelei A_2 (q), iar pe ordonată numărul de micropopulații. Graficul este fie ca un histogram, fie o curbă de frecvență.

Cum arată el în prima generație și în generațiile ulterioare ? Maxima se păstrează aceeași ? De ce ? Dacă nu se păstrează, încercați să explicați cauza.

2.2.3. Observarea acțiunii driftului genetic de modificare a raportului sexual în populații de Drosophila melanogaster

Materiale necesare : imago de *Drosophila melanogaster*, borcane de 250 ml sau pahare Berzelius acoperite etanș cu tifon, mediu de cultură, lupă 5x, cloroform, creion, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Mediul de cultură și alte indicații privind biologia musculiței de oțet (*Drosophila melanogaster*) au fost prezentate anterior. În actuala lucrare practică se va urmări raportul dintre numărul de indivizi masculi și cei femeli

Scanned with OKEN Scanner

cunoscut sub numele de *sex ratio*. Teoretic valoarea sa este 1 ; cele două sexe reprezintă cîte 50% din indivizii reproducători (a se vedea explicaţia genetică în capitolul „Ereditatea"). În populaţiile mari, abaterile sînt nesemnificative, în schimb, în populaţiile mici raportul se îndepărtează semnificativ de valoarea teoretică. Întrucît cunoaştem valoarea teoretică pentru *sex ratio*, modificarea sa în populaţii mici poate servi ca test pentru demonstrarea acţiunii driftului genetic.

Se prepară 5—10 borcane de cultură cu mediu nutritiv şi pentru fiecare cîte trei perechi de *Drosophila melanogaster*. Adulţii sînt observaţi pe parcursul cîtorva zile verificîndu-se dacă are loc împerecherea şi depunerea ouălelor de către femele. Sînt apoi eliminaţi din culturi (prin deschiderea capacului) ; borcanele se menţin la 20—25°C. După circa o săptămînă se face un prim control pentru a se vedea dacă au apărut primii adulţi din noua generaţie. Se repetă apoi controalele zilnic.

Adulţii identificaţi se transferă în alt vas, se anesteziază cu cloroform şi se identifică sexul. Operaţia se desfăşoară zilnic pentru a se exclude pe cît posibil acumularea adulţilor. Se observă momentul în care apariţia adulţilor încetează. Operaţia durează circa 20 zile.

Fiecare cultură, cuprinzînd descendenţii a trei perechi, poate fi socotită drept o populaţie mică. Se calculează pentru fiecare *sex ratio*. Valorile acestuia pentru toate culturile permit calculul mediei, varianţei şi coeficientului de variaţie (a se vedea capitolul 2.3.1).

Se apropie media de valoarea teoretică 1 ? Ce diferenţe procentuale există (socotind 1 = 100%) ? Cît la sută din culturi au valori diferite de 1 ? Care este abaterea minimă şi maximă de la valoarea teoretică ? Cît de mare este coeficientul de variaţie ?

2.2.4. Modelarea teoretică a acţiunii selecţiei sexuale de restrîngere a variabilităţii (MODELARE SCRIBO, M. TUFESCU),

Materiale necesare : creion, hîrtie, gumă, hîrtie milimetrică, riglă de calcul.

Mod de lucru. Această modelare elimină abaterile driftului genetic. Din această cauză ea poate ilustra evoluţia unor populaţii mari.

Prezentăm, în cele ce urmează, succesiunea de reguli (algoritmul) în cadrul acestei modelări.

1) *Regula startului specific* este similară lucrării precedente. Adică se porneşte de la o frecvenţă de 50% pentru alele A_2 ($q = 0{,}5$), se consideră că aceasta este recesivă şi împotriva ei se îndreaptă eliminarea. Impunem, în plus, condiţia echilibrului genetic pentru populaţie : ceea ce înseamnă că frecvenţa Q a genotipului A_2A_2 este egală cu q^2, frecvenţa P a genotipului A_1A_1 cu p^2, în timp ce frecvenţa heterozigotului $H = 2pq$. Deci populaţia la început va avea valorile : 0,25 (P) + 0,50 (H) + 0,25 (Q).

Datele privind startul populaţiei se trec în formularul de lucru prevăzut cu şase coloane pentru P, H, Q, T, p, q. Valoarea lui T, reprezentînd suma frecvenţei genotipurilor, nu se completează, ştiind că înainte de selecţie ea totalizează 1 (adică 100%).

Scanned with OKEN Scanner

2) *Regula încrucișării selective* prevede înlăturarea de la reproducere a tuturor cuplurilor posibile care s-ar forma cu masculi purtători ai alelei A_2. Cum putem calcula proporția eliminării ? Modalitatea cea mai simplă este de a alcătui graficul încrucișării între genotipii respectivi, elimimînd cuplurile care nu se formează din cauza nepreferării partenerului. Prezentăm în cele ce urmează acest grafic :

♀ \ ♂	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
A_1A_1	$A_1A_1 \cdot A_1A_1$ 1 : 1	$A_1A_1 \cdot A_1A_2$ 1 : 1	—
A_1A_2	$A_1A_1 \cdot A_1A_2$ 1 : 1	$A_1A_1 \cdot A_1A_2 \cdot A_2A_2$ 1 : 2 : 1	—
A_2A_2	$A_1A_2 \cdot A_1A_2$ 1 : 1	$A_1A_2 \cdot A_2A_2$ A : 1	—

Descendența este notată în chenar în cele nouă pătrate, rezultînd din intersecția genotipurilor indivizilor masculi (coloane) cu cele ale indivizilor femeli (rîndurile). Indivizii masculi posesori ai genotipului homozigot recesiv (A_2A_2) sînt eliminați de la reproducere : cuplurile care nu se formează s-au notat cu liniuță.

Se observă că prin încrucișare apar cinci tipuri de cupluri (din cele șase unul se repetă) :

— $A_1A_1 \times A_1A_1$ (odată)
— $A_1A_1 \times A_1A_2$ (de două ori)
— $A_1A_1 \times A_2A_2$ (odată)
— $A_1A_2 \times A_1A_2$ (odată)
— $A_1A_2 \times A_2A_2$ (odată)

Descendența se determină după legile lui M e n d e l. Dacă în paranteză pentru fiecare cuplu notăm frecvențele, descendenții unui cuplu vor avea ca frecvență produsul frecvențelor părinților. Astfel :

— $A_1A_1(P) \times A_1A_1(P) \rightarrow P^2$ descendenți toți A_1A_1 ;
— două cupluri : $A_1A_1(P) \times A_1A_2(H) \rightarrow 2$ PH descendenți, jumătate A_1A_1 (PH) și jumătate A_1A_2 (PH) ;
— $A_1A_1(P) \times A_2A_2(Q) \rightarrow PQ$ descendenți, toți A_1A_2 ;
— $A_1A_2(H) \times A_1A_2(H) \rightarrow H^2$ descendenți dintre care :
A_1A_1 ($H^2/4$), A_1A_2 ($H^2/2$) și A_2A_2 ($H^2/4$), respectînd proporția segregării 1 : 2 : 1 ;
— $A_1A_2(H) \times A_2A_2(Q) \rightarrow HQ$ descendenți dintre care jumătate A_1A_2 (HQ/2) și jumătate A_2A_2 (HQ/2).

Scanned with OKEN Scanner

Graficul încrucișării permite totodată a se calcula ecuațiile frecvenței genotipurilor descendenților după reproducerea preferențială a părinților:

$$P' = P^2 + PH + H^2/4 = P(1-Q) + H^2/4$$
$$H' = PQ + PH + H^2/2 = P(1-P) + H^2/2$$
$$Q' = HQ/2 + H^2/4 = (Q + H/2)\ H/2.$$

Pentru fiecare genotip sînt date două ecuații. Cea de a doua s-a realizat, știind că $P + H + Q = 1$ și deci $P + H = 1 - Q$, iar $Q + H = 1 - P$.

Practic, avînd la dispoziție frecvențele celor trei genotipi (primul rînd de valori ale unei generații figurate în formular) se pot ușor calcula valorile acestora după eliminarea selectivă: P', H' și Q'. Se va calcula acum și $T = P' + H' + Q'$, care are o valoare subunitară prin pierderea selectivă de descendenți în urma nonpreferării masculilor de genotip A_2A_2. Toate aceste date se trec în rîndul al doilea din formulare rezervat generației respective.

Dacă, de exemplu, $P = 0{,}36$, $H = 0{,}48$ și $Q = 0{,}16$, atunci după selecție frecvențele se vor modifica astfel:

$$P' = 0{,}36 \times (1 - 0{,}16) + 0{,}48^2 : 4 = 0{,}3600$$
$$H' = 0{,}36 \times (1 - 0{,}36) + 0{,}48^2 : 2 = 0{,}3456$$
$$Q' = (0{,}16 + 0{,}48 : 2)\ (0{,}48 : 2) \quad = 0{,}0960$$
$$T = 0{,}8016$$

3) *Regula procentualizării frecvenței descendenților.* Se trage o linie orizontală sub al doilea rînd, desemnînd astfel o nouă generație. Frecvențele celor trei genotipuri ale noii generații se calculează astfel:

$$P = P'/T$$
$$H = H'/T$$
$$Q = Q'/T.$$

Datele se trec în formular, alcătuind primul rînd de valori pentru noua generație. Cel de-al doilea rînd se calculează pe baza ecuațiilor expuse la regula încrucișării selective. În acest fel se completează pentru cel puțin 10 generații frecvențele celor trei genotipuri.

Datele din exemplul de mai sus se prelucrează astfel:

$$P = 0{,}3600 : 0{,}8016 = 0{,}4491$$
$$H = 0{,}3456 : 0{,}8016 = 0{,}4311$$
$$Q = 0{,}0960 : 0{,}8016 = 0{,}1198$$
$$1{,}0000$$

O b s e r v a ț i i. Apare foarte clar faptul că acțiunea driftului este eliminată, neexistînd o grupare incidentală și limitată ca posiblități ai indivizilor parentali și nici o descendență redusă. Practic se formează toate cuplurile posibile, iar descendența se obține respectînd regulile pro-

Scanned with OKEN Scanner

babilistice. Să ne gîndim, de exemplu, că în cazul modelării cu bile, un genotip este reprezentat prin puține bile. Combinațiile pe care acestea le realizează cu bile din ceilalți genotipi vor fi doar incidental egale cu cele teoretice, de cele mai multe ori rezultatele fiind diferite.

Aspectele ce se vor urmări au fost indicate în cadrul lucrării practice de la pag. 137.

În această modelare nu este necesar a se simula eliminarea totală a homozigotului recesiv pentru că acest proces este teoretic infinit. Se impune analiza a cel puțin a 10 generații pentru că pe parcursul lor valoarea lui q variază între limite relativ largi, ceea ce permite a se trage concluzii asupra procesului. Observațiile și interpretările se vor face după aceleași indicații ca pentru lucrarea practică amintită.

Trebuie să facem o *recomandare* importantă : dacă calculele se efectuează simplu, fără riglă sau mașină de calcul, este necesar a se rotunji valorile, luînd după virgulă cel mult patru cifre. Rotunjirile se vor realiza în conformitate cu indicațiile din capitolul de statistică regula procentualizării (7) punctul B.

2.2.5. Modelarea teoretică a acțiunii selecției naturale de restrîngere a variabilității (MODELARE RaMCoT, M. TUFESCU)

Materiale necesare : o cutie lungă de circa 35 cm, trei seturi a 100 de bile (cu diametrul de circa 1,5 mm) de culori diferite (de exemplu, negru=N, roșu=R și alb=A), creion, hîrtie, hîrtie milimetrică, riglă de calcul.

Mod de lucru. Selecția naturală a fost definită de D a r w i n drept „supraviețuirea celor mai apți", iar evoluționiștii moderni, în același spirit, o caracterizează drept „mortalitatea diferențiată a genotipurilor unei populații în funcție de valoarea lor adaptativă". Avantajul adaptativ se măsoară în procentul de indivizi ai unui genotip care ajung să se reproducă în raport cu alt genotip. Pierderile procentuale sînt măsura înlăturării indivizilor prin selecție naturală. Asupra acestei noțiuni vom reveni cu amănunte în capitolul următor. Pentru moment este necesar să mai subliniem un aspect : selecția naturală (ca și cea sexuală) elimină sau păstrează diferențial genotipurile care se manifestă fenotipic. Două genotipuri cu același fenotip, dacă nu implică deficiențe fiziologice, au aceeași valoare adaptativă. De exemplu, alela „carbonaria" din populațiile de fluturi *Biston betularia* este dominantă față de alela „sălbatică". Heterozigoții au aceeași valoare adaptativă, ca și homozigoții dominanți.

Evoluția populațiilor de *Biston betularia* în zona poluată limitrofă orașului englez Manchester, cît și experiențele efectuate ulterior în jurul acestui caz, reprezintă un exemplu binecunoscut pentru a se ilustra rolul selecției naturale ca factor evolutiv. Fumul fabricilor din zona industrială citată a modificat

Scanned with OKEN Scanner

profund mediul de viață al speciei. Pe arborii înnegriți au devenit avantajați indivizii purtători ai alelei „carbonaria" care le conferă o culoare protectoare în raport cu alela „sălbatică". Aceasta, în starea homozigotă se traduce fenotipic printr-o culoare deschisă, contrastantă cu mediul poluat. În ultima jumătate de secol selecția naturală a schimbat proporția celor două alele : primul individ melanic a fost observat în 1848 la Manchester, iar în 1895 indivizii melanici formau 98% din populație. Cercetările au demonstrat, pentru zona citată, că și la alte specii de lepidoptere s-au produs evoluții similare. H a l d a n e a calculat că, în timp ce fenotipul „Carbonaria" (adică genotipul homozigot carbonaria și cel heterozigot) are o valoare adaptativă de 100%, din fenotipul sălbatic (reprezentat prin genotipul homozigot recesiv) supraviețuiesc în fiecare generație 77% indivizi, 23% fiind eliminați. Se ilustrează astfel foarte clar definiția de mortalitate diferențială genotipică dată selecției naturale.

Prin modelarea de mai jos vom simula un caz similar, adică de acțiune a selecției naturale împotriva alelei A_2, care este recesivă, cu eliminarea a 23% din indivizii genotipului homozigot. Prezentăm regulile modelării în succesiunea lor.

1) *Regula startului specific.* Populația este considerată în echilibru genetic în momentul cînd începe să se exercite acțiunea selecției naturale cu indicii citați. Se respectă deci proporțiile $p^2 + 2pq + q^2$ pentru genotipurile notate cu bile N (A_1A_1), R(A_1A_2), A(A_2A_2), prin p notînd frecvența alelei A_1, iar prin q, frecvența alelei A_2. Este indicat a se începe cu o frecvență ridicată a alelei A_2 ; q va fi cuprins între 0,8 și 0,9 (adică între 80% și 90%, și nu mai mic de 0,8 (80%). Dacă de exemplu $q = 0,8$, atunci se vor obține următoarele proporții pentru genotipi : $P = 0,04$, $H = 0,32$, și $Q = 0,64$. Cu P s-a notat frecvența indivizilor N, cu H a celor R, iar cu Q a celor A. Deci într-o cutie se introduc cele trei categorii de bile în numărul calculat, știind că 0,01 este egal cu 1%, iar o bilă reprezintă în cadrul modelării un procent.

2) *Regula cuplurilor întîmplătoare.* Bilele corespunzătoare ca număr și culoare se introduc în cutie și se amestecă. După cîteva cicluri se oprește și se înclină pe o parte, pentru ca bilele să se așeze pe un singur șir. Cuplurile se recunosc, separînd cîte două bile începînd de la stînga la dreapta.

3) *Regula descendenței specifice.* Fiecare din cele două bile ale unui cuplu parental vor fi înlocuite cu cîte patru bile reprezentînd descendența. Cele șase tipuri de cupluri posibile vor da naștere la următoarea descendență :

a) $NN \rightarrow 4N$

b) $NA \rightarrow 4R$

c) $AA \rightarrow 4A$

d) $NA \rightarrow 2N + 2R -$

e) $RA \rightarrow -2R + 2A$

f) $RR \rightarrow N + 2R + A$

Scanned with OKEN Scanner

Practic se vor număra cîte cupluri aparţin fiecărui tip dintre cele şase. Datele obţinute vor fi notate în formularul de lucru. Prezentăm în continuare valorile care vor trebui înregistrate pentru o generaţie :

Generaţia	NN	NA	AA	RN	RA	RR		N	R	A
22	⊠	⊓		⊠ ⊠	⊠	⊠	(I)	28	12	0
	⌜			⊠ ⊠	⌜	⊠	(II)	46	46	—
				⊓			(III)	—	14	14
	7	3	0	23	7	10	(IV)	10	20	10
							Total (T)	84	92	24
							(T × V)	84 + 92 + 18 = 194		
		(I)		(II)	(III)	(IV)	%	43	48	9

După coloana în care se notează numărul generaţiei se observă că urmează un prim set de şase coloane în care se înscrie numărul celor şase tipuri de cupluri. Pentru uşurinţa înregistrării, iniţial, se notează fiecare cuplu cu cîte o liniuţă. În josul coloanelor se totalizează numărul ce revine fiecărei categorii. Cele şase tipuri de cupluri sînt reunite în patru grupuri, notate cu cifre romane. Semnificaţia acestei grupări este legată de numărul de descendenţi specifici celor trei genotipuri : *N*, *R*, *A*. Astfel :

— Grupul (I) de cupluri (*NN*, *NA*, *AA*) va da naştere fiecare dintre ele la cîte 4 descendenţi aparţinînd unui genotip : $NN \rightarrow 4N$; $NA \rightarrow 4R$; $AA \rightarrow 4A$. Rezultatele din josul celor trei coloane de cupluri parentale se vor înmulţi deci fiecare cu patru, iar valorile obţinute se notează în rîndul (I) al celor trei genotipuri. Astfel 7, 3, 0 devin 28, 12, 0.

— Grupul (II), format din cuplul parental *RN*, va da naştere la cîte doi $2N$ şi $2R$. Deci 23 cupluri parentale *RN* vor forma 46 *N* şi 46 *R*.

— Grupul (III), format din cuplul parental *RA*, va da naştere la cîte $2R$ şi $2A$. Deci : 7 $RA \rightarrow 14R + 14A$.

— Grupul (IV), format din cuplul parental *RR*, va da naştere la cîte patru descendenţi astfel : $1N + 2R + 1A$. Deci :

$$10RR \rightarrow 10N + 20R + 10A.$$

Fiecare dintre cele patru grupuri de cupluri vor concura la mărirea celor trei categorii de descendenţi. Este deci necesar a se face un total al numărului de descendenţi pentru fiecare genotip. În cazul exemplificat : T = 84 *N* +

Scanned with OKEN Scanner

+ 92 R + 24 A. Totalul descendenței, în toate cazurile, va fi egal cu 200 întrucît vor fi 50 cupluri x 4 descendenți în fiecare generație.

4) *Regula eliminării specifice.* Cele trei genotipuri nu au aceeași valoare adaptativă (V). Prin modelarea de mai sus se pot simula situații diferite de acțiune a selecției naturale. Cele șase cazuri cunoscute vor fi prezentate în capitolul următor. În situația de față vom modela spre exemplificare un singur caz: cel al eliminării homozigoților recesivi. Aceasta înseamnă că cele trei genotipuri prezentate ca rezultat al determinării prin două alele vor fi grupate în două fenotipuri distincte: $N + R$, care vor manifesta caracteristice alelei dominante și A, caracteristica alelei recesive. Eliminarea genotipului A se face proporțional cu valoarea sa adaptivă (V = 1 — s). De exemplu, am arătat că genotipul standard din populațiile de *Biston betularia* în zonele poluate ale împrejurimilor orașului Manchester prezintă V = 0,77 (calculat de Haldane). Vom prelua această valoare pentru simulare. Calculul se va realiza astfel:

— descendenții N, cu V = 1 vor supraviețui în totalitate: $84 \times 1 = 84$;
— descendenții R, cu V = 1 vor supraviețui în totalitate: $92 \times 1 = 92$;
— descendenții A, cu V = 0,77 vor pieri proporțional cu această valoare adaptativă: $24 \times 0{,}77 = 18{,}48 \approx 18$.

Totalul descendenței nu va mai înregistra 200 indivizi, ci mai puțin proporțional cu pierderile genotipului nefavorizat. Este deci necesar un calcul de procentualizare care se va realiza astfel:

$$\begin{aligned} P &= N\% = 84 \times 100/194 = 43 \\ H &= R\% = 92 \times 100/194 = 48 \\ Q &= A\% = 18 \times 100/194 = 9 \\ &\overline{\text{total} = 100} \end{aligned}$$

Practic, valorile $N\%$ (P), $R\%$ (H) și $A\%$ (Q) reprezintă numărul de bile al noii generații, aparținînd celor trei categorii: N, R și A. Pentru ușurința modificării numărului de bile se recurge la formular. Astfel se constată numărul de bile, aparținînd fiecărei categorii în generația anterioară și în cea pentru care s-a realizat calculul. Se înregistrează diferențele specifice, în plus sau minus, pentru fiecare genotip și se extrage, sau, respectiv, se adaugă numărul corespunzător. De exemplu, în generația 21 $N = 41$, $R = 48$ și $A = 11$ în timp ce în generația 22 modelarea indică $N = 43$, $R = 48$ și $A = 9$. Se vor adăuga deci două bile negre (N) și se vor extrage două bile albe (A) din cutie. În acest fel modificările se produc rapid; pe parcursul întregii modelări practic nu se mai numără bilele din cele trei categorii, aceasta implicînd însă o mare atenție a controlării numărului inițial (de start), iar pentru fiecare generație a numărului corect al cuplurilor și al calculului diferențelor.

Observații. Ținem să remarcăm faptul că în succesiunea momentelor, cel privind eliminarea prin selecție naturală, concretizat prin regula eliminării specifice survine după realizarea componenței noii generații (a descendenților). A se compara această intervenție cu cea a selecției sexuale, în care eliminarea se manifestă înainte de realizarea cuplurilor. Se conturează astfel momentele diferite de intervenție a selecției naturale și sexuale. Trebuie însă subliniat faptul că acțiunea selecției naturale se face simțită pe tot parcursul unei generații, începînd cu formarea

Scanned with OKEN Scanner

cuplurilor parentale și continuînd cu selecția gametică, prenatală și a juvenililor. În cazul modelării, pentru simplificare am concentrat acțiunea selecției naturale într-un singur moment al unei generații. Înțelegerea acestei situații presupune însă aspecte mai complicate; trebuie să ținem seama și de caracterul diferitelor momente. De exemplu, selecția naturală acționează în etapa prenatală doar în cazul alelelor letale.

Aspectele care se vor urmări în cadrul acestei modelări sînt similare celor indicate pentru modelarea selecției sexuale. Astfel, se vor face grafice pentru a se depista evoluția alelei A_2 (reprezentată prin valoarea q) în raport cu numărul generației, cît și a raportului de dependență a mărimii modificării frecvenței alelei A_2 (reprezentată prin valoarea Δq) în funcție de q. De asemeni, se va măsura eficacitatea maximă a selecției naturale (Δq maxim) în raport de diferite valori pentru q.

2.2.6. Modelarea teoretică a interacțiunii selecției naturale și a factorilor generatori de variabilitate (MODELARE GRAPHODUPLEX, M. TUFESCU)

Materiale necesare: creion, gumă, hîrtie, hîrtie milimetrică, riglă de calcul.

Mod de lucru. Modelarea Duplex ca și modelările simple descrise anterior care utilizează bile, implică simularea procesului recombinării genetice prin realizarea cuplurilor întîmplătoare dintre bile. Este evident faptul că aceeași populație de bile poate evolua diferit pe parcursul unei generații numai prin concursul cuplării bilelor. S-a arătat în capitolul de statistică semnificația noțiunilor de medie și varianță. Similar putem spune că regulile probabilistice prin care se indică valoarea unei probabilități de realizare a unui eveniment se comportă ca o valoare medie față de care evenimentele concrete apar ca valori individuale însumînd o anumită varianță. De acest fapt ne putem convinge dacă repetăm (pornind de la aceleași valori) modelarea Duplex pe parcursul a cîtorva generații. Se va vedea că aproape fiecare repetare va desemna un grafic diferit de celelalte. Întrucît am respectat aceleași reguli și am utilizat aceleași valori pentru mutații, imigrații și selecția naturală, diferențele sînt datorate recombinărilor genetice, ținînd de hazardul cuplării bilelor. Ne putem pune acum problema modului în care populația ar evolua dacă s-ar limita acest hazard. Avem în acest fel posibilitatea de a studia o populație teoretică cu un număr foarte mare de indivizi a căror frecvențe de încrucișare se apropie de posibilitățile teoretice.

Prezentăm algoritmul acestei modelări prin regulile ce le implică într-o succesiune specifică. Vom modela evoluția unei populații formată din trei genotipuri alcătuite din două alele dintre care alela A_2 este recesivă. Ca și pentru modelăriile anterioare, vom considera că selecția naturală acționează împotriva genotipului recesiv, iar factorii generatori de variabilitate sînt favorabili alelei A_2. Genotipul A_1A_1 va fi reprezentat prin frecvența P, A_1A_2 prin frecvența H și A_2A_2 prin frecvența Q.

1) *Regula startului specific* este reprezentată prin respectarea unui echilibru genetic inițial al populației. El se concretizează prin următoarele frecvențe ale genotipurilor: p^2 pentru P, 2pq pentru H și q^2 pentru Q, în timp ce

Scanned with OKEN Scanner

gena A_1 prezintă frecvenţa p, iar A_2 frecvenţa q. Suma $p + q = 1$ sau 100% ; similar $p^2 + q^2 + 2pq = (p + q)^2 = 1$. Întrucît, în mod natural, presiunea selecţiei este mai mare decît cea a factorilor generatori de variabilitate rezultă că modelarea, în condiţiile eliminării selective a genotipului A_2A_2 va conduce spre scăderea frecvenţei alelei A_2. Din această cauză vom porni de la o populaţie cu o frecvenţă ridicată a alelei A_2, de exemplu $q = 0,8$. Regula echilibrului genetic ne permite să calculăm valorile frecvenţei genotipurilor: P = 4%, H = 32%, Q = 64% ($p^2 = 0,04$; $2pq = 0,32$; $q^2 = 0,64$). Datele obţinute în diferite faze ale modelării se înscriu într-un tabel ; prezentăm mai jos un exemplu concret pentru primele trei generaţii.

Generaţia	Frecvenţa genotipurilor	Mutaţia	Migraţia	Total	Frecvenţa alelelor	Recombinarea	Selecţia	Total
1	P — 0,04	0,03	0,03		p = 0,179	0,03	0,03	
	H — 0,32	0,33	0,37	1,2	q = 0,821	0,30	0,30	0,80
	Q = 0,64	0,64	0,80			0,67	0,47	
2	P — 0,04	0,03	0,03		p = 0,200	0,04	0,04	
	H — 0,37	0,38	0,42	1,2	q = 0,800	0,32	0,32	0,81
	Q — 0,59	0,59	0,75			0,64	0,45	
3	P — 0,05	0,04	0,04		p = 0,216	0,05	0,05	
	H — 0,39	0,40	0,44	1,2	q = 0,784	0,34	0,34	0,82
	Q = 0,56	0,56	0,72			0,61	0,43	

2) *Regula ratei specifice a mutaţiilor.* Rata mutaţiilor naturale pentru un locus este relativ scăzută pentru a fi modelată (circa 10^{-4}—10^{-9}). Propunem pentru uşurinţa modelării o rată de 5×10^{-2} de apariţie a alelei A_2 din alela A_1. Aceasta se traduce prin înlocuirea a 0,01 P cu 0,01 H pentru P = 0,2. În exemplul prezentat în tabel aceste modificări de frecvenţă prin mutaţii sînt indicate în coloana a treia. Se observă astfel că pentru generaţia 1, P = 0,04 se modifică după mutaţie în P = 0,03, în timp ce H = 0,32 devine H = 0,33. Frecvenţa genotipului A_2A_2 rămîne nemodificată.

3) *Regula presiunii specifice a imigraţiilor.* Pentru a se respecta condiţia ca prin imigrare să fie avantajată alela A_2, valoarea q_m trebuie să fie mai mare decît q. Cum $q_0 = 0,8$, putem lua $q_m = 0,9$. Întrucît valoarea lui q scade treptat prin acţiunea selecţiei înseamnă că q = 0,8 reprezintă valoarea maximă

Scanned with OKEN Scanner

a frecvenței alelei A_2. În acest caz pentru toate generațiile $q_m = 0,9$ va fi mai mare decît q. Propunem o rată de imigrare: $m = 0,1667$. Aceasta este reprezentată concret prin 20 indivizi imigranți la 100 autohtoni sau 0,2 la 1. Proporția $0,04\,H + 0,16\,Q = 0,2$ respectă valoarea $q_m = 0,9$ pentru că $q_m = \frac{0,16 + 0,02}{0,2} = \frac{0,18}{0,2} = 0,9$.

În tabel, în coloana „migrație" se vor nota modificările de frecvență produse prin imigrație. Valoarea lui P va rămîne aceeași ca în coloana „mutația", întrucît nu există imigrați din acest genotip. În schimb, H va crește cu 0,04, iar Q cu 0,16 pentru fiecare generație.

După coloana „migrația" în tabel este menționată o coloană în care se face suma frecvențelor genotipurilor. Aceasta este necesară pentru controlul calculului deoarece am arătat că, la o populație de 1 (sau 100%) se adaugă în fiecare generație 0,2 (sau 20%) imigranți, totalul fiind în mod constant 1,2. Suma frecvențelor din coloana „migrația" trebuie să verifice această cifră.

4) *Regula recombinării* se respectă prin alcătuirea tabelului de recombinare. Pentru acest tabel este necesară cunoașterea lui p' și q':

$$p' = \frac{P'}{1,2} + \frac{H'}{2 \times 1,2} = \frac{2P' + H'}{2,4}$$

$$q' = \frac{Q'}{1,2} + \frac{H'}{2 \times 1,2} = \frac{2Q' + H'}{2,4}$$

Valorile lui P', H' și Q' sînt date în coloana: „migrația". Indicele de „prim" pus atît la frecvența alelelor cît și a genotipurilor indică faptul că acestea se referă la valorile obținute după acțiunea mutațiilor și migrațiilor. A nu fi confundate cu cele menționate în coloana: „frecvența genotipurilor".

Din încrucișarea a p gameți A_2 și q gameți A_1, pentru sexul bărbătesc, cu p gameți A_1 și q gameți A_2, pentru sexul femeiesc, vor rezulta: p^2 descendenți A_1A_1, 2pq descendenți A_1A_2 și q^2 descendenți A_2A_2. Acest algoritm al recombinării va fi folosit și în cazul modelării Graphoduplex. După recombinare se vor obține următoarele frecvențe:

$$P'' = (p')^2$$
$$H'' = (2p'\ q')$$
$$Q'' = (q')^2.$$

Frecvențele P'', H'' și Q'' se trec în coloana „recombinarea ". Ele vor însuma 1 întrucît $p' + q' = 1$.

5) *Regula supraviețuirii specifice* sau *regula selecției naturale*. Întrucît alela A_2 este recesivă, iar selecția naturală acționează împotriva genotipului A_2A_2, rezultă că valoarea adaptativă a genotipurilor A_1A_1 și A_1A_2 este identică și egală cu 1 (deci supraviețuire 100%). Pierderile se vor înregistra doar pentru genotipul A_2A_2, fiind proporționale cu valoarea adaptativă (V). Luăm $V = 0,7$, adică o supraviețuire de 70%. Valoarea lui Q după selecție va fi deci $Q'' \times V$. De exemplu, pentru generația I $Q'' = 0,67$, iar $Q'' \times V = 0,469 \approx 0,47$.

6) *Regula procentualizării în noua generație*. În prima generație, după acțiunea tuturor factorilor evolutivi, s-au înregistrat frecvențele $P = 0,03$, $H = 0,30$, $Q = 0,47$. Totalul lor nu mai este egal cu 1 ci mai mic prin pierderile

Scanned with OKEN Scanner

datorate selecției ; concret, 0,8. Această valoare este înregistrată în coloana : „Total". Frecvențele trebuie deci procentualizate pntru a oglindi real proporția genotipurilor din generația următoare (a II-a). Acest proces se realizează prin împărțirea fiecărei frecvențe la „Total". De exemplu : 0,03/0,8 $\approx$ 0,04 ; 0,30/0,8 $\approx$ 0,37 ; 0,47/0,8 $\approx$ 0,59. Valorile obținute se trec în coloana „frecvența genotipurilor" pentru generația următoare (a doua în cazul exemplificat). Ele sînt apoi folosite după indicațiile regulilor 2—6, obținîndu-se frecvențele genotipurilor pentru generația a treia ; acestea, după aceleași reguli, vor permite desemnarea valorilor generației a patra și așa mai departe.

O b s e r v a ț i i. Pentru ușurința modelării rata mutațiilor s-a considerat a fi constant reprezentată prin înlocuirea a 0,01 P cu 0,01 H. La o valoare P = 0,2 rata mutațiilor va fi cea indicată la regula ratei specifice a mutațiilor și anume de 0,05. Dar P crește treptat. Astfel, dacă P = 0,8, înlocuirea semnalată va fi echivalentă cu o rată a mutațiilor de 0,0125, adică de circa cinci ori mai mică. Ar trebui deci ca, pentru fiecare nouă generație să se calculeze proporția înlocuirii lui P cu H astfel ca rata mutațiilor să rămînă constantă. Indicații sînt date în capitolul următor.

Datele obținute prin modelarea Graphoduplex permit analiza unor aspecte importante ale procesului evolutiv. Astfel se poate ilustra procesul în sine printr-un grafic care să redea schimbarea frecvenței genotipurilor în funcție de timp (numărul de generații) sau a frecvenței alelelor în funcție de timp. *Care este forma curbelor obținute ?*

În capitolul 2.3.2. se prezintă modul de calcul al evoluției unei populații sub acțiunea fiecărui factor evolutiv. Încercați să calculați, în paralel cu modelarea Graphoduplex, schimbarea frecvenței genotipurilor și genelor exclusiv sub acțiunea selecției naturale. Figurați evoluția unei populații sub acțiunea factorilor generatori de variabilitate (date obținute prin modelare Graphoduplex) și exclusiv sub acțiunea selecției naturale (date obținute prin calcul). Un astfel de grafic este prezentat în figura 55. *Observați diferențele în plus sau minus pentru cele trei genotipuri. La care dintre ele se înregistrează diferențele cele mai mici și de ce ?*

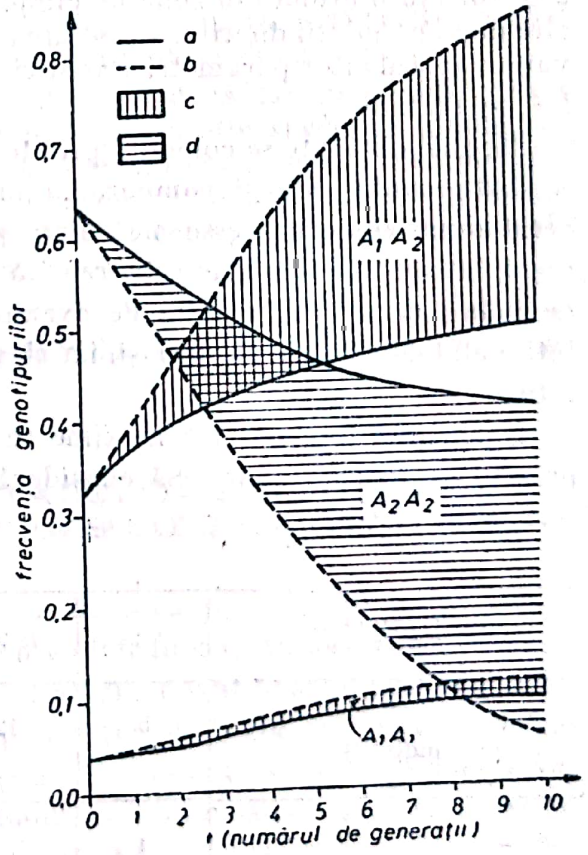


Figura 55. Modelarea Graphoduplex a unei populații sub acțiunea factorilor generatori de variabilitate și a selecției naturale (*a*) comparativ cu acțiunea exclusivă a selecției naturale (*b*) ; *c* — diferențe pozitive ; *d* — diferențe negative.

Scanned with OKEN Scanner

Ilustrați de asemenea mărimea modificărilor Δq *în funcție de q atît pentru datele obținute prin modelare Graphoduplex, cît și prin calculul modificărilor populației, exclusiv prin selecție naturală. La ce valori q se înregistrează valori maxime* Δq *în cele două situații ?*

Modelarea Graphoduplex se poate realiza și pornindu-se de la frecvențe scăzute ale alelei A_2. *Încercați de exemplu să observați cum evoluează o populație sub acțiunea acelorași valori ale factorilor evolutivi ca cele indicate mai sus, dar pornind de la* $q = 0,5$. *Dar de la* $q = 0,1$? *Modelați evoluția unei populații în sens simetric față de propunerea inițială, adică pornind de la valori scăzute ale lui q, cu selecția naturală favorabilă genotipului* A_2A_2 *și factorii generatori de variabilitate, acționînd în sensul descreșterii alelei* A_1.

2.2.7. Microevoluția diferențială a două populații

Materiale necesare : colecție de indivizi de *Capsella bursa-pastoris* (L.) din două populații diferite, creion, riglă, hîrtie, hîrtie milimetrică.

Mod de lucru. Se indică colectarea în timpul verii de cîte 50 indivizi din specia citată din două zone diferite geografic. Este recomandabil, de exemplu, a se colecta o probă din zona de cîmpie, alta din zona deluroasă sau din orice alte două populații diferite. Colectarea indivizilor, măsurarea, calculul mediei, variantei și al altor parametri statistici, efectuîndu-se după indicațiile capitolului de statistică.

Mediile obținute se compară prin testul d sau t (a se vedea capitolul 2.3.1.).

Interesantă este și compararea modului cum se distribuie valorile. În acest sens, elocventă este alcătuirea pe același grafic a histogramelor celor două loturi. Comparația este reușită dacă se egalează frecvențele claselor de valori cu număr maxim de exemplare. În același timp, este necesar ca intervalul de clasă să fie același, iar clasele să coincidă ca limite pentru ambele loturi.

Egalizarea frecvențelor maxime se va realiza după indicațiile pe care le prezentăm în continuare. Să considerăm că avem următoarele valori pentru cele două loturi :

Intervalul clasei de valori (cm)	5-15	15-25	25-35	35-45	45-55	Total
Lot 1 (număr indivizi)	5	12	21	9	3	50
Lot 2 (număr indivizi	4	7	11	19	9	50

Se constată că pentru lotul 1 frecvența maximă (21 indivizi) este diferită de lotul 2 (19). Egalizarea se realizează considerînd frecvența maximă (F.M)

Scanned with OKEN Scanner

drept 100% şi calculul procentual al celorlalte valori. Se utilizează în acest scop regula de trei simple :

$$\begin{array}{l} \text{F.M.} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots 100\% \\ \text{F} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots x \end{array}$$

$$x = \frac{100F}{\text{F.M.}}$$

Cu F s-a notat frecvenţa fiecărei clase în parte.

Să luăm de exemplu $F = 12$ (valoarea frecvenţei clasei 15—25 cm din lotul 1). În acest caz, frecvenţa procentualizată (x) va fi :

$$x_2 = \frac{12 \cdot 100}{21} = 57\%.$$

S-a notat frecvenţa cu x_2 pentru că aparţine celei de a doua clase de valori, prima clasă fiind 5—15 cm.

Frecvenţele astfel calculate permit o reprezentare în care vîrful celor două histograme este egal ca înălţime, putîndu-se compara mărimea frecvenţei celor două loturi pentru fiecare dintre celelalte clase de valori.

Recomandăm a se studia în mod similar cîte două sau mai multe loturi de indivizi, provenind din populaţii diferite şi din alte specii de plante. În cazul că se compară mai mult de două loturi se utilizează aceeaşi metodologie. Se compară prin testul d sau t perechi de medii, realizîndu-se toate perechile de medii posibile. Histogramele se suprapun în acelaşi grafic cu frecvenţele maxime egalizate. Pentru fiecare lot se foloseşte o altă culoare.

O b s e r v a ţ i e. Metodologia de cercetare indicată se aplică în principiu, pentru orice altă specie.

2.3. INTRODUCERE ÎN STATISTICĂ ŞI MODELAREA MATEMATICĂ A PROCESULUI EVOLUTIV

Teoria sintetică a evoluţiei se bazează pe calculul modificărilor structurii genetice a populaţiei sub influenţa diferiţilor factori evolutivi cu ajutorul unui sistem de ecuaţii. Ele au rezultat din cuantificarea tezelor fundamentale ale darwinismului şi geneticii populaţionale. Prin acţiunea factorilor evolutivi frecvenţa q_0 a alelei A_2 în generaţia parentală este schimbată valoric în q_1 la descendenţi. Mărimea modificării este $\Delta q = q_1 - q_0$. Fiecare factor evolutivinduce o modificare specifică Δq.

Modificările evolutive se produc asupra unui sistem supraindividual, populaţia, iar analiza lor necesită cunoştinţe statistice. Numărul mare de calcule impune folosirea maşinei de calcul sau, în lipsa acesteia, a abacului, plus o riglă de calcul.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.1. Statistica și modalități de calcul

Dintr-o populație de indivizi se extrage de obicei un lot de indivizi care se măsoară și se analizează statistic. Datele obținute vor caracteriza lotul; pentru a obține o caracterizare statistică a întregii populații lotul de indivizi analizați trebuie mărit foarte mult. Vom analiza în continuare o serie de aspecte legate de interpretarea acestor date cît și de compararea unor loturi de valori la care adăugăm unele indicații practice.

1) *Caracteristicile statistice ale unui lot mic, cu un număr redus de valori care nu se pot grupa în clase, media aritmetică,* $(\overline{X})$, *varianța,* (s^2) *și coeficientul de variație* (C) se calculează astfel:

$$\overline{x} = \frac{\Sigma(X_k)}{n} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \ldots + x_n}{n}$$

$$s^2 = \frac{\Sigma(x - \overline{x})^2}{n-1} = \frac{(x_1 - \overline{x})^2 + (x_2 - \overline{x})^2 + \ldots + (x_n - \overline{x})^2}{n-1}$$

$$C = \frac{100s}{\overline{x}}$$

Valorile lotului sînt $x_1, x_2, x_3 \ldots x_n$; notate sintetic cu x_k, $k = 1, 2, 3 \ldots n$, iar Σ este suma valorilor din paranteză.

De remarcat că radicalul pătrat al varianței, reprezentat de s, este numit în statistică *abatere standard*.

Coeficientul de variație oferă posibilitatea de a aprecia, în procente, mărimea abaterii standard în raport cu media, sau, în mod global, mărimea diferențelor valorilor față de medie, luînd valoarea medie drept 100%. Varianța exprimă același lucru sub o altă formă, oglindind modul de grupare al valorilor în jurul mediei: o varianță mai mică reflectă gruparea majorității valorilor mai aproape de medie.

Exemplu: sînt date valorile 11, 14, 9, 12, 7.

$$\overline{x} = \frac{11 + 14 + 9 + 12 + 7}{5} = \frac{53}{5} = 10{,}6$$

$$s^2 = \frac{(11 - 10{,}6)^2 + (14 - 10{,}6)^2 + (9 - 10{,}6)^2 + (12 - 10{,}6)^2 + (7 - 10{,}6)^2}{4}$$

$$s_2 = \frac{29{,}2}{4} = 7{,}3$$

$$C = \frac{100 \cdot \sqrt{7{,}3}}{10{,}6} = 16{,}9.$$

2) *Caracteristicele statistice ale unui lot mare de valori care se pot grupa în clase* $(n \geqslant 50)$ sînt:

$$\overline{x} = \frac{\Sigma f_k x_k}{n}; \quad \Sigma f_k = n$$

$$s^2 = \frac{\Sigma(f_k X_k^2) - \overline{x}\Sigma f_k X_k}{n-1}$$

$$C = \frac{100s}{\overline{x}}$$

$$a = x_n - x_1$$

$$i = \frac{a}{k}$$

Scanned with OKEN Scanner

Valorile se pot grupa în k clase. Intervalul dintre valoarea maximă (x_n) și minimă (x_1) poartă numele de *aplitudine de variație (a). Intervalul de clasă (i)* se definește astfel că valoarea rezultată din împărțirea amplitudinii de variație la numărul de clase.

În fiecare clasă de valori se cuprinde un număr de observații (valori) reprezentînd frecvența clasei (f_k). Fiecare clasă este reprezentată în calcul, nu prin toate valorile empirice observate, ci printr-o singură valoare numită *centrul clasei* (x_k), care este de fapt valoarea medie a clasei, respectiv semisuma valorilor extreme ce încadrează clasa.

Operația de calcul $\Sigma f_k x_k$, necesară pentru medie și varianță, se realizează în două faze: a) se calculează în parte pentru fiecare clasă produsul între frecvența ei și valoarea centrului clasei; b) se face apoi suma tuturor acestor produși. În cazul operației $\Sigma (f_k x_k^2)$ produsul pentru fiecare clasă se realizează între pătratul valorii centrului clasei și frecvența corespunzătoare, apoi se calculează suma produșilor fiecărei clase. Este foarte importantă respectarea ordinii operațiilor pentru corectitudinea calculului.

Cînd se înregistrează valorile rezultate din măsurători, cercetătorul le notează în ordinea apariției lor, alcătuind un tabel original. Gruparea lor pe clase conduce la întocmirea unui *tabel de repartiție a frecvențelor.*

Exemplu: se dă următorul tabel de 50 de valori:
26,5; 34,5; 23; 30,5; 35,5; 30,5; 33; 37; 27; 31; 29; 32,5; 35; 32,5; 33; 34,5; 30,5; 33; 31; 35; 28,5; 31,5; 27; 30,5; 33; 29,5; 38,5; 31,5; 34,5; 32,5; 30,5: 25; 33; 27,5; 31,5; 33,5; 32,5; 33; 26,5; 30,5; 31; 28,5; 29,5; 34, 5; 29,5; 29; 33; 24,5; 30,5; 31; 28,5; 33; 29; 31,5; 29,5; 33; 24,5; 38,5; 31; 37; 28. Valoarea cea mai mare fiind 38,5, iar cea mai mică 23, rezultă că $a = 15{,}5$. Numărul optim de clase (k) pentru un număr de 50—100 indivizi este de 8—10.

Atragem atenția asupra faptului că numărul de clase (k) în care se grupează valorile observate este direct dependent de numărul acestor valori; un număr mare de observații permite un număr mare de clase și reciproca. Este evident faptul că un număr mic de valori, grupat într-un număr mare de clase, va contura o distribuție a frecvențelor ce se va abate semnificativ de la configurația distribuției normale. În mod concret nu se va obține o distribuție în clopot a frecvențelor (adică cele mai multe în zona valorii medii, scăzînd simetric spre extreme), ci o distribuție cu mai multe vîrfuri. Nu se afectează valoarea mediei, ci a varianței (care crește semnificativ), iar comparația cu alte loturi conduce către rezultate false. Este deci necesar să se respecte numărul optim de clase.

În cazul concret exemplificat un număr bun pare cel de 9 clase. Prezentăm în continuare tabelul de repartiție a frecvențelor, cît și calculul mediei și varianței:

Intervalul clasei	x	f	fx	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$
0	1	2	3	4	5
22—24	23	1	23	—8,2623	68,2655
24—26	25	2	50	—6,2623	39,2163
26—28	27	5	135	—4,2623	18,1672
28—30	29	12	348	—2,2623	5,1180

Scanned with OKEN Scanner

0	1	2	3	4	5
30—32	31	16	496	−0,2623	0,0688
32—34	33	14	462	−1,7377	3,0196
34—36	35	8	280	+3,7377	13,9704
36—38	37	2	74	+5,7377	32,9212
38—40	39	1	39	+7,7377	52,8721
$i=2$		$N=61$	$\Sigma fx = 1\,907$		$\Sigma(x-\bar{x})^2 = 240{,}6191$

$\bar{x} = 1\,907 : 61 = 31{,}262295$; $s^2 = 240{,}6191 : 60 = 4{,}010319$

$$C = \frac{100 \times 2{,}002578}{31{,}261295} = 6{,}41\ \%.$$

3) *Corecția varianței*. S-a observat că atît pentru calculul mediei cît și al varianței, în cazul grupării valorilor în clase, s-a utilizat valoarea centrului clasei (x_k). Dacă media se apreciază relativ exact varianța este eronată. Diferența între varianța reală și cea estimată va fi cu atît mai mare cu cît intervalul clasei (i) crește. Sheppard a reușit să găsească următoarea ecuație de calcul a varianței corecte :

$$s^2 \text{ (corectat)} = s^2 - \frac{1}{12} \cdot i^2.$$

Practic, după calculul varianței se estimează produsul $i^2/12$ cu ajutorul riglei de calcul. Se compară valoarea estimată a acestuia cu mărimea varianței. Corecția varianței se realizează numai dacă varianța ar fi efectiv afectată de scăderea produsului $i^2/12$.

Exemplu : fie $s^2 = 4{,}010319$ și $i = 2$ (vezi datele din tabel).

$$\frac{i^2}{12} = \frac{4}{12} = \frac{1}{3} = 0{,}03(3)$$

Corecția merită să fie luată în seamă pentru că practic reduce varianța cu o unitate. Astfel s^2 (corectat) : 3,676986.

4) *Reprezentarea grafică a unui lot mare de valori* se realizează sub forma *histogramei*. Pe ordonată se notează clasele de valori, pe abscisă frecvența fiecăreia. Histograma are forma unei piramide în trepte (fig. 56), dat fiind că pe intervalul unei clase se înscrie o dreaptă paralelă cu abscisa aflată la o înălțime egală cu frecvența clasei. Distribuția normală este reprezentată printr-o histogramă cu o singură valoare maximă (modul), situată în intervalul clasei mediane, de o parte și de alta a ei, frecvențele scăzînd relativ simetric.

Pentru histograma multimodală (cu mai multe maxime) se pot da două explicații cauzale : a) numărul mic de observații (a se vedea mai sus problema numărului optim k) ; b) amestecul mai multor populații diferite, atîtea cîte maxime prezintă histograma. Empiric, problema se rezolvă prin suplimentarea numărului de observații ; menținerea stării multimodale pledează pentru a doua ipoteză.

Scanned with OKEN Scanner

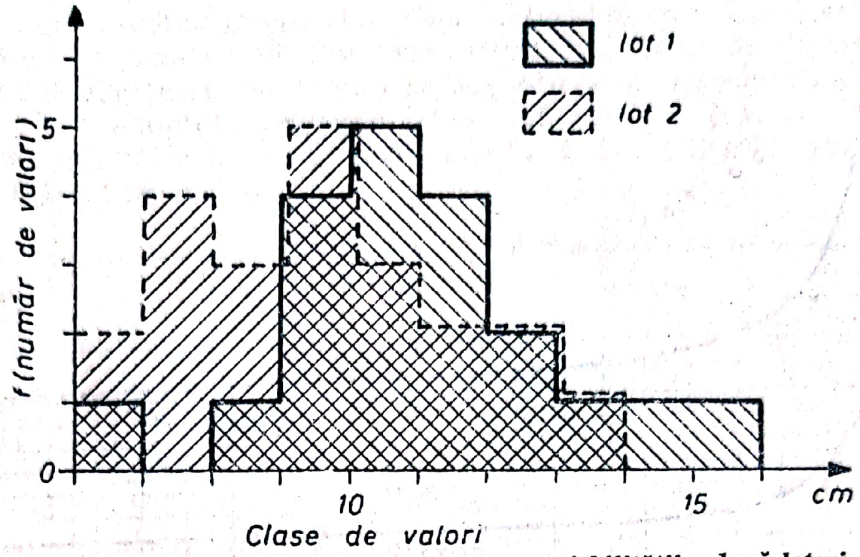


Figura 56. Histogramă pentru ilustrarea variabilității a două loturi de valori.

5) *Comparația între două loturi de valori* se realizează în funcție de tipul de distribuție al acesteia, care se apreciază în funcție de mărimea mediei $(\bar{x})$ și varianței (s^2). În cazul cînd media este mai mare decît varianța, lotul de valori prezintă o distribuție de tip normal. Dacă numărul de măsurători este foarte mare se poate considera că există o distribuție normală sau Gauss a valorilor. Dacă varianța este egală cu media, valorile prezintă o distribuție de tip Poisson. Există și posibilitatea ca varianța să fie mai mare decît media ceea ce semnifică faptul că în același lot s-au amestecat valori din două populații diferite și acestea trebuie separate.

Există modalități diferite de apreciere a tipului de distribuție a valorilor. Noi propunem un test original interesant prin ușurința utilizării lui și prin faptul că nu solicită tabele de valori. *Este vorba de testul coeficientului de variație (C).* Dacă $C > 120\%$, există fie prea puține valori, fie un amestec de populații (a se vedea anterior problema lui k); analiza se reia, se suplimentează valorile. Pentru $79{,}95\% < C < 120\%$ valorile prezintă o distribuție Poisson, iar pentru $C < 79{,}95\%$ o distribuție normală.

Testul d pentru compararea a două loturi de valori fiecare cu distribuție Poisson (n_1, n_2 = numărul de valori în cele două loturi, $\bar{x}_1$, $\bar{x}_2$ = mediile; se impune ca $n_1\bar{x}_1 \leqslant 30$ și $n_2\bar{x}_2 \leqslant 30$, altfel testul conduce la rezultate nereale):

$$d = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\bar{x}_1}{n_1} + \frac{\bar{x}_2}{n_2}}}$$

Dacă $d > 1{,}960$ diferența este semnificativă și foarte semnificativă cînd $d > 3{,}291$.

Testul t (Student) pentru compararea a două loturi de valori fiecare cu distribuție de tip normal,

$$= \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Scanned with OKEN Scanner

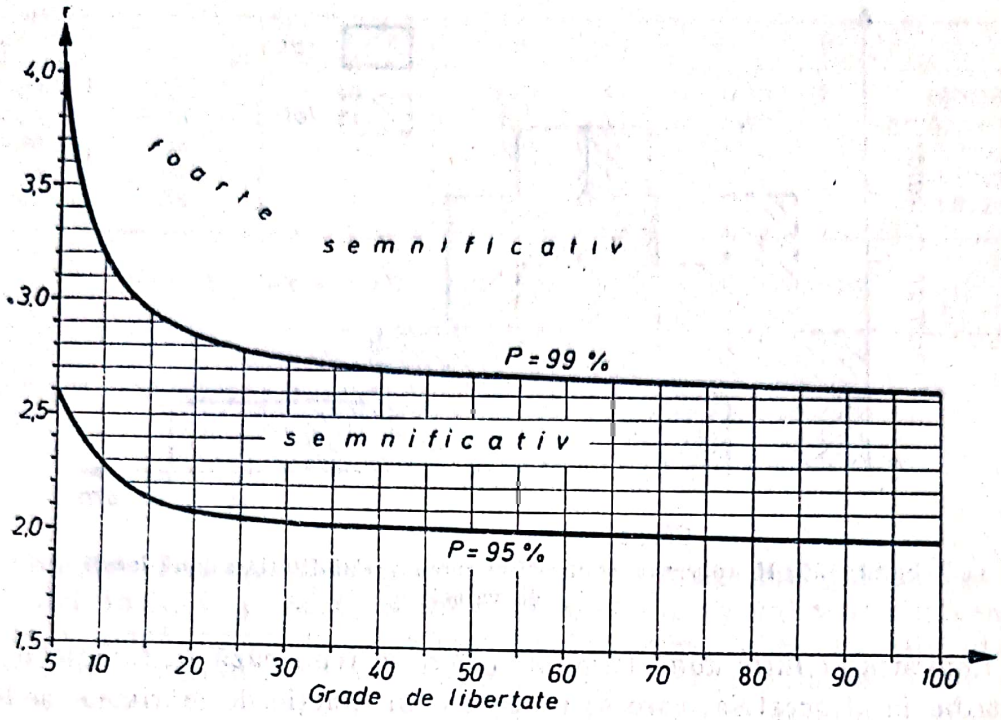


Figura 57. Distribuția t pentru $P = 99\%$ și $P = 95$ % în funcție de numărul gradelor de libertate.

Pentru loturi mici, numărul gradelor de libertate (G.L.) este relativ egal cu $n_1 + n_2 - 3$ cînd n_1 și n_2 sînt mai mici sau egali cu 20. Cînd $n_1 \leqslant 30$, $n_2 \leqslant 30$, G.L. $= n_1 + n_2 - 2$, iar cînd $n_1 > 30$ și $n_2 > 30$, G.L. $= n_1 + n_2 - 1$. Semnificația rezultatelor se citește în figura 57.

Pentru exemplificare, citățm următoarele date: $\bar{x}_1 = 10{,}5$ mm, $s_1^2 = 4{,}263157$; $n_1 = 20$; $\bar{x}_2 = 9$ cm; $s_2^2 = 3{,}904762$; $n_2 = 22$. Prin calcul se constată că $C_1 = 40{,}6015\%$, iar $C_2 = 43{,}3855\%$. Deci ambele loturi se încadrează într-o distribuție de tip normal ($C < 79{,}95\%$). Se va utiliza deci testul t:

$$t = \frac{1{,}5}{\sqrt{0{,}2244 + 0{,}1859}} = 2{,}3417 \quad \text{G.L.} \approx 22 + 20 - 3 = 39.$$

În figura 57 se citește faptul că diferența dintre loturi este de factură semnificativă.

6) *Compararea valorii medii observate cu cea teoretică* (testul χ^2). Uneori se poate cunoaște valoarea teoretică a mediei populației rezultată din aplicarea unor legități. De exemplu, în conformitate cu procesul recombinării mendeleene 50% din descendența unei populații trebuie să fie de sex masculin și 50% de sex feminin, existînd un *sex ratio* (S.R.) egal cu 1 (a se vedea lucrarea practică de la pag. 137). Efectuînd un sondaj pe o sută de persoane se găsește de exemplu, că 53 sînt femei și 47 bărbați. S.R. $= 0{,}8868$. Se abate oare acest lot de la legile lui Mendel care indică S.R. $= 1$? Practic se folosește testul χ^2, în care se compară, pe rînd, fiecare valoare observată (o) cu valoarea așteptată (a) după ecuația:

$$\chi^2 = \sum \frac{(o - a)^2}{a}.$$

Scanned with OKEN Scanner

Se vor obține atîtea fracții cîte valori observate sînt. Rezultatul se însumează. Numărul gradelor de libertate pentru distribuții de tip normal este egal cu al comparațiilor minus unu cu excepția unei singure observații cînd G.L. = 1. În exemplul prezentat $\chi^2 = 0{,}128159$ cu G.L. = 1, diferența față de *sex ratio* teoretic, fiind nesemnificativă. Semnificația rezultatelor se citește în tabelul de mai jos :

G.L.	5%	1%	G.L.	5%	1%	G.L.	5%	1%
1	3,84	6,63	16	26,30	32,00	40	55,76	63,69
2	5,99	9,21	17	27,59	33,41	50	67,50	76,15
3	7,81	11,34	18	28,87	34,81	60	79,08	88,38
4	9,49	13,28	19	30,14	36,19	70	90,53	100,42
5	11,07	15,09	20	31,41	37,57	80	101,88	112,33
6	12,59	16,81	21	32,67	38,93	90	113,14	124,12
7	14,07	18,48	22	33,92	40,29	100	124,34	138,81
8	15,51	20,09	23	35,17	41,64			
9	16,92	21,67	24	36,42	42,98			
10	18,31	22,21	25	37,65	44,31			
11	19,68	24,72	26	38,89	45,64			
12	21,03	26,22	27	40,11	49,96			
13	22,36	27,69	28	41,34	48,28			
14	23,68	29,14	29	42,56	49,59			
15	25,00	30,59	30	43,77	50,89			

Cu 5% și 1% s-au notat probabilitățile unor valori mai mari ale lui χ^2. Dacă valoarea calculată a lui χ^2 este mai mică decît cea din tabelul pentru P = 5% se poate considera drept nesemnificativă ; dacă este cuprinsă între valorile pentru P = 5% și P = 1%, diferențele testate se consideră semnificative, iar dacă este mai mare decît cea pentru P = 1%, diferențele testate se consideră foarte semnificative.

De exemplu, dacă diferența între valoarea observată și cea teoretică (așteptată), măsurată prin testul χ^2 este de 40,09 pentru G.L. = 26, rezultă că este semnificativă, întrucît este mai mare decît valoarea pentru $P = 5\%$ (38,89) și mai mică decît valoarea lui pentru $P = 1\%$ (45,64).

7) *Corelații între două caractere măsurabile.* Dacă valorile unui caracter se notează cu x_1, iar cele corespunzătoare celuilalt caracter cu x_2, coeficientul de corelație *(r)* va fi :

$$r = \frac{\Sigma x_1 x_2}{(\sqrt{\Sigma X_1})(\sqrt{\Sigma X_2})}.$$

Valorile lui r variază între zero și $\pm$ 1. Cu cît r are o valoare mai apropiată de unitate (pozitivă sau negativă) cu atît există o corelație mai strînsă între cele două caractere. Dacă *r* este pozitiv corelația este directă (la valori

Scanned with OKEN Scanner

mari ale unui caracter corespund valori mari pentru al doilea), iar dacă r este negativ, corelația este inversă (la valori mari pentru un caracter, corespund valori mici ale celuilalt). Valorile lui r apropiate de zero indică lipsa unei corelații între caracterele măsurate.

Exemplu : s-au măsurat la 7 indivizi caracterele x_1 și x_2 :

x_1	2	1	3	3	1	2	2
x_2	4	5	3	4	2	1	1

se calculează : $\Sigma x_1 x_2 = 40$; $\sqrt{\Sigma x_1} = 5{,}6568$; $\sqrt{\Sigma x_2} = 8{,}4853$; $r = 0{,}8333$.

8) *Folosirea logaritmilor* permite simplificarea calculelor, reducînd cu un ordin de mărime operațiile implicate. Astfel, operațiile de ordinul unu (adunări și scăderi) nu se pot efectua după logaritmarea numerelor. În schimb înmulțirile devin adunări ale valorilor logaritmate, iar împărțirile, scăderi. Poate mai importantă este simplificarea operațiilor de ordinul trei în care ridicarea la putere se reduce la înmulțirea valorii logaritmate cu puterea sa, iar extragerea rădăcinii — împărțirea valorii logaritmate la indicele radicalului (în cazul rădăcinii pătrate acesta fiind doi).

În general sînt folosiți logaritmii neperieni sau naturali (ln), care au drept bază numărul e = 2,717828 ... și mai frecvent logaritmii zecimali (lg) ai unui număr (N). Logaritmii naturali se pot transforma ușor în logaritmi zecimali și invers, după ecuațiile :

$$\ln N = 2{,}30258 \times \lg N,$$

$$\lg N = 0{,}43429 \times \ln N.$$

Logaritmul unui număr este reprezentat printr-o valoare zecimală în care partea întreagă se numește caracteristică, iar partea zecimală, situată după virgulă, mantisă. Pentru logaritmii zecimali $\lg 0{,}01 = \bar{2}$; $\lg 0{,}1 = \bar{1}$; $\lg 1 = 0$; $\lg 10 = 1$; $\lg 100 = 2$ etc. În acest fel dacă numărul de logaritmat este mai mic decît 1 el va avea o caracteristică negativă care va fi egală cu rangul primei cifre semnificative după virgulă. De exemplu, $\lg 0{,}0056 = \bar{3}, \ldots$. Semnul negativ se trece deasupra caracteristicii. Dacă numărul este mai mare decît unu atunci caracteristica este pozitivă și egală cu numărul cifrelor părții întregi minus unu. De exemplu, $\lg 437 = 2, \ldots$ pentru că sînt trei cifre.

O observație importantă se desprinde dacă transformăm numărul de logaritmat într-un produs de două numere în care primul să fie numărul inițial micșorat sau mărit de atîtea zeci de ori încît prima sa cifră să fie de ordinul unităților, iar al doilea număr — zece la puterea necesară pentru a reface numărul inițial. Caracteristica va fi tocmai puterea numărului zece. Astfel, $437 = 4{,}37 \times 10^2$, iar $\lg 437 = 2, \ldots$

Mantisa logaritmului se găsește în tabela de logaritmi și se adaugă după virgulă caracteristicii. De obicei, ea este formată din cinci zecimale ; pentru calcule rapide se pot folosi numai trei. Mantisa din trei și chiar patru zecimale pentru logaritmul unui număr se poate citi pe rigla de calcul (vezi mai departe). Explicații detaliate privind operațiile cu logaritmi se găsesc în textul ce însoțește tabelele de logaritmi.

Scanned with OKEN Scanner

9) *Folosirea riglei de calcul și a abacului.* În situația în care nu există o mașină electronică de calcul miniaturizată (menționăm că din anul 1976 industria românească a pus la dispoziția întreprinderilor calculatoare de buzunar), pentru ușurarea activității de calcul se poate apela la rigla de calcul și abac.

Cu **abacul** sau „numărătoarea" folosită în clasele primare se pot realiza operații de ordinul unu mult mai puțin obositor decît cu creionul și hîrtia. Abacul are de obicei zece șiruri de bile formate fiecare din cîte zece bile. Se așază abacul culcat pe masă cu baza spre cercetător. Cele zece șiruri de bile sînt situate paralel, de la cel mai apropiat de cercetător spre cel mai îndepărtat. Atît pentru adunare cît și pentru scădere, bilele sînt așezate în fiecare șir pe marginea stîngă a abacului. Operațiile de adunare sau scădere se reduc la simpla înscriere a numerelor în ordinea dictată aritmetic. La adunare această ordine nu contează, dar pentru scădere întîi se înscrie numărul mai mare. Algebric, se procedează la fel numai că la rezultatul scăderii se va adăuga semnul respectiv. În ordinea îndepărtării de cercetător fiecare șir de bile semnifică un rang de mărime zecimală de la cel mai mic (șirul apropiat) spre cel mai mare.

Astfel, numărul 760,1, se înscrie astfel : o bilă pe primul șir, zero bile pe al doilea, șase bile pe al treilea și șapte pe al patrulea. Între șirul unu și doi se pune un semn pentru a marca virgula.

Regula adunării : se mută pentru fiecare cifră pe fiecare șir de la stînga la dreapta un număr corespunzător de bile. Dacă în partea stîngă sînt mai puține bile decît cele reprezentate de cifră pe partea dreaptă se vor lăsa atîtea bile cît reprezintă diferența (restul se trece pe stînga), la care se adaugă o bilă în plus pe șirul superior.

De exemplu : 563 + 780,6. Se înscrie întîi primul număr. În partea dreaptă a abacului în șirul doi se pun trei bile, în șirul trei — șase, iar în al patrulea — cinci. Se înscrie apoi al doilea număr : în primul șir se mută în dreapta șase bile, în al doilea nici una ; în al treilea trebuie mutate opt, dar nu sînt decît patru. Diferența este de patru, iar în dreapta șirului sînt șase. Se mută două în stînga, rămînînd patru în dreapta, iar pe șirul patru la cele cinci bile se mai adaugă una. A mai rămas de înscris cifra șapte pe șirul patru. În stînga nu sînt decît patru bile, diferența fiind de trei. Se lasă deci trei bile în dreapta, iar restul de trei se mută în stînga. Se mai adaugă pentru șirul cinci o bilă pe partea dreaptă a abacului. Rezultatul se citește pe bilele din dreapta : o bilă pe șirul cinci, trei pe șirul patru, patru pe șirul trei, trei pe șirul doi, semnul virgulei și șase bile pe șirul unu. Deci : 1343,6.

Regula scăderii impune înscrierea inițială, în partea dreaptă a abacului a numărului mai mare. Numărul mai mic se va extrage din acesta prin mutarea, pe fiecare șir, a unui număr corespunzător de bile din dreapta în stînga. Dacă sînt mai puține bile se mută acestea în stînga odată cu una de pe șirul superior, se readuc apoi toate cele zece bile înapoi în dreapta pentru șirul respectiv și din ele se mută spre stînga diferența.

De exemplu : sînt șase bile și trebuie extrase (scăzute) nouă. Se mută cele șase în stînga, rămînînd o diferență de trei. Se mută apoi în stînga o bilă pe șirul superior și se readuc în dreapta, pe șirul respectiv, toate cele zece bile. Din ele se mută în stînga diferența de trei.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă în şirul superior sînt zero bile pe partea dreaptă se mută în stînga una pe şirul următor ca mărime, pe şirul cu zero bile se mută nouă în dreapta, iar pe şirul unde se operează se procedează ca mai sus.

După cîteva exerciţii abacul se utilizează automat. În cazul adunării unui şir lung de valori este recomandabil ca pe hîrtia pe care acestea sînt înscrise să se bifeze fiecare valoare care se înscrie pe abac.

Rigla de calcul permite executarea de operaţii de la ordinul doi (inclusiv) în sus, plus operaţii trigonometrice etc. Ne vom referi la executarea operaţiilor de înmulţire, împărţire, de ridicare la putere, extragere de radical şi de aflarea logaritmilor.

Corpul riglei prezintă patru scări pe faţa superioară, două externe şi două interne. Pe marginea inferioară se află înscrisă scara logaritmică, cuprinzînd mantisele logaritmilor. Imediat deasupra, pe marginea inferioară a şanţului este înscrisă scara lineară. Marginea superioară a şanţului cuprinde scara pătratelor, iar deasupra ei (deci pe marginea superioară externă a riglei) se află scara cuburilor. Rigleta pe faţă posedă trei scări: două pe margini şi una în centru. Pe marginea inferioară se află scara lineară, iar pe cea superioară scara pătratelor, ambele fiind similare scărilor vecine de pe corpul riglei. Scara centrală a rigletei este inversul scării lineare.

Cursorul ne interesează pentru linia centrală roşie care este perpendiculară pe scările descrise. Ea permite citirea rezultatelor sau indicarea unor valori.

O regulă importantă a riglei de calcul este de a transforma iniţial fiecare număr introdus în calcul în două numere în care primul să fie micşorat sau mărit de atîtea zeci de ori încît prima sa cifră semnificativă să fie de ordinul unităţilor, iar al doilea număr un coeficient zecimal respectiv — zece la puterea necesară regăsirii numărului iniţial. De exemplu, $0{,}00693 = 6{,}93 \times \times 10^{-3}$; $269 = 2{,}69 \times 10^2$. Pe scara lineară (ca şi pe cea logaritmică) se înscriu numere între 1 şi 10, pe cea pătratică între 1 şi 100, iar pe cea cubică între 1 şi 1 000.

Înmulţirea se realizează pe principiul adunării logaritmice. Pe scara lineară se înscrie cu firul marcator al cursorului primul număr după regula mărimii valorilor. Adică în loc de 137 se va scrie 1,37 şi se va reţine faptul că produsul se va înmulţi cu 10^2. În dreptul acestui număr (1,37) se va aduce cifra 1 de pe scara lineară a rigletei. Se deplasează apoi cursorul şi se identifică pe scara lineară a rigletei cu firul marcator al doilea număr.

Fie el 62; practic se va suprapune firul pe valoarea 6,2, reţinînd, ca şi în cazul primului factor, că produsul trebuie înmulţit cu $10^1 = 10$. Se citeşte valoarea înscrisă de firul marcator pe scara lineară a corpului riglei. Ea este aproximativ 8,5. Acest număr se înmulţeşte cu $10^2 \times 10^1 = 10^{2+1} = 10^3$, cît reprezintă produsul coeficienţilor zecimali ai celor două numere. Practic rezultatul estimat va fi 8 500 (faţă de 8 494 rezultat real).

Adunarea logaritmică s-a realizat deci prin punerea cap la cap a celor două segmente, reprezentînd valorile numerelor în scară logaritmică. Se poate întîmpla ca, printr-o astfel de însumare, al doilea număr, înscris pe scara lineară a rigletei, să iasă în afara corpului riglei şi să nu mai poată fi citit rezul-

Scanned with OKEN Scanner

tatul. În acest caz, operația de înmulțire se realizează pe scările pătrate ale corpului riglei și rigletei, rezultatul se identifică în mod similar. După cîteva exerciții se va putea estima de la început dacă înmulțirea se poate realiza pe scara lineară sau pătratică. Avantajul operațiilor pe scara lineară este dat de un grad crescut de precizie.

Împărțirea se bazează pe aceeași transformare a numerelor conform regulii valorilor. De exemplu, $1\,961 = 1{,}961 \times 10^3$; $625 = 6{,}25 \times 10^2$. Fiind o scădere logaritmică puterile coeficienților zecimali se scad : $10^3 : 10^2 = 10^{3-2} = 10$. La fel se procedează și pe riglă. Se identifică cu firul cursorului pe scara lineară a corpului riglei deîmpărțitul (1,961 — practic se poate identifica doar 1,96). Rigleta este glisată pînă ce numărul 6,25 ajunge în dreptul firului marcator și respectiv al deîmpărțitului. Rezultatul se citește pe scara lineară a corpului riglei în dreptul cifrei zece a scării lineare a rigletei. El este 3,14.

Este 3,14 sau 31,4 ? (ținînd seama că 3,14 ar trebui înmulțit cu coeficientul 10^1). Să remarcăm că 1,961 : 6,25 va da un rezultat subunitar respectiv 0,314. Acesta înmulțit cu 10 va conduce la rezultatul final de 3,14 (prin împărțire exactă se obține 3,1376).

Logaritmul unui număr. Caracteristica se află conform indicațiilor din paragraful anterior. Mantisa este înscrisă pe scara logaritmilor respectiv pe marginea inferioară externă a corpului riglei. Se identifică numărul pe scara lineară a corpului riglei (atenție : nu pe rigletă !), iar cu ajutorul firului marcator al cursorului se citește valoarea corespunzătoare a mantisei situată în dreptul lui.

Pătratul unui număr. După identificarea numărului pe scara lineară a corpului riglei se suprapune peste această valoare firul marcator și rezultatul se citește pe scara pătratelor de pe corpul riglei. Rețineți importanța coeficientului zecimal ; dacă acesta este 10^3, pentru numărul inițial va fi $(10^3)^2 = 10^3 \times \times 10^2 = 10^6$. Rădăcina pătrată a unui număr se calculează simetric : se identifică numărul pe scara lineară a corpului riglei. Coeficientul zecimal pierde două unități de putere. Exemplu 10 devine $10^{1-2} = 10^{-1}$.

Ridicarea la puterea a treia se realizează prin utilizarea scării lineare și cubice a corpului riglei. Coeficientul zecimal sporește cu trei unități de putere. Pentru rădăcina cubică se procedează simetric.

Rotunjirea numerelor se realizează după cîteva reguli. Întîi se impune determinarea numărului de cifre care rămîn nemodificate, acesta fiind în legătură cu cerințele rigorii rezultatului. De exemplu, în cazul procentelor se poate renunța la cifrele de după virgulă. Regulile rotunjirii sînt următoarele :

— un număr de cifre de rang inferior sînt eliminate, în timp ce ultima cifră rămasă se modifică sau nu ;

— dacă prima cifră după cifra păstrată este mai mare decît 5 (adică 6, 7, 8, 9), rotunjirea se realizează prin adăugarea unei unități la cifra rămasă. De exemplu, dacă la 41,66 se înlătură partea zecimală, prin rotunjire se obține 42% ;

— dacă prima cifră după cifra păstrată este mai mică decît 5 (adică 4, 3, 2, 1, 0), rotunjirea se realizează prin eliminarea tuturor cifrelor de după cifra rămasă. De exemplu, dacă din 6,2712 se păstrează doar două zecimale, prin rotunjire se obține 6,27 ;

— dacă prima cifră după cifra păstrată este egală cu 5, se aplică regulile de mai sus pentru cifra următoare, și așa mai departe ;

Scanned with OKEN Scanner

— pentru procente, suma tuturor procentelor rotunjite trebuie să fie egală cu 100. Dacă se întîlnește situația în care fracțiunile ce se înlătură sînt toate mai mici decît 5, în conformitate cu regulile de mai sus, practic se va elimina 1%. În acest caz se optează pentru adăugarea unui procent la valoarea care prezintă fracțiunea cea mai mare. Dacă însă toate fracțiunile sînt egale se optează arbitrar pentru mărirea cu o unitate a unui procent.

2.3.2. Modelarea matematică a acțiunii factorilor evolutivi

1) *Echilibrul Hardy-Weinberg sau al populației ideale.* O populație ideală impune următoarele condiții : să fie mai mare și să nu-și modifice structura genetică adică să nu evolueze. Se exclud astfel mutațiile, migrațiile, driftul genetic, selecția sexuală (indivizii se încrucișează întîmplător, fără electivitate) și selecția naturală. În acest caz, frecvențele genotipurilor unigenice sînt termenii binomului dezvoltat al frecvenței alelelor genei respective. Astfel, dacă sînt două alele : A_1 cu frecvența p și A_2 cu frecvența q, frecvențele genotipurilor vor fi p^2 pentru A_1A_1, 2pq pentru A_1A_2 și q^2 pentru A_2. Cum $p + q = 1$ (sau 100%), la fel $(p^2 + 2pq + q^2) = (p + q)^2 = 1$. Pentru trei alele frecvența va fi : A_1 (p), A_2 (q), A_3 (r), iar frecvența genotipurilor va fi : $A_1A_1(p^2)$, $A_2A_2(q^2)$, $A_3A_3(r^2)$, $A_1A_2(2pq)$, A_1A_3 (2pr), A_2A_3 (2qr).

Deși populațiile biologice se află sub acțiunea factorilor evolutivi și nu respectă cerințele echilibrului genetic, relația citată între frecvența genotipurilor și alelelor este folosită practic pentru determinarea frecvenței alelelor. Erorile care se fac în estimare sînt mai puțin importante decît efortul de determinare pe alte căi a valorilor exacte.

■ **Exercițiul 1.** Într-o populație de fluturi se recunosc două forme : una închisă la culoare cu frecvența 0,19 și alta deschisă la culoare cu frecvența 0,81.

Considerînd că este vorba de o singură genă, cîte alele o constituie și care este frecvența lor ?

Rezolvare : numărul de doi genotipi poate fi determinat doar de două alele (trei alele ar conduce la mai mulți genotipi chiar dacă ar exista alele recesive). Dacă sînt două alele una dintre frecvențe este un pătrat — — respectiv pătratul frecvenței alelei recesive A_2. Rezultă deci că cele două frecvențe aparțin fenotipurilor : 1) A_2A_2 respectiv q^2 și 2) $A_1A_1 + A_1A_2$ respectiv $p^2 + 2pq$. Frecvența q^2 este un pătrat. Aceasta este $0,81 = (0,9)^2$ pentru că 0,19 nu permite extragerea exactă a unei rădăcini pătrate. Dacă $q=0,9$, $p = 1-q=1-0,9 = 0,1$. Genotipii vor avea deci frecvențele $p^2 = 0,01$; $q^2 = 0,81$ și $2pq = 0,18$, iar $p^2 + 2pq = 0,18 + 0,01 = 0,19$, ceea ce verifică una dintre valorile de la care s-a inițiat calculul, a doua fiind $q^2 = 0,81$.

■ **Exercițiul 2.** Într-o populație se identifică trei forme cu frecvențele 0,19 ; 0,56 ; 0,25.

Cîți genotipi participă la realizarea acestor trei fenotipuri și cîte alele ? (Socotim că sînt forme alelice ale aceleiași gene.) *Care este frecvența alelelor și a genotipurilor ?*

Scanned with OKEN Scanner

Rezolvare : 0,25 este singurul pătrat perfect. Deci una dintre alele, fie ea A_1 are $p = 0,5$. Par a fi trei alele în care prima este dominantă față de celelalte două, iar a doua față de a treia. Dacă ar fi două alele, ar trebui ca două frecvențe să fie pătrate perfecte, ceea ce nu se întîmplă în realitate. Pătratul perfect pare a fi astfel frecvența genotipului A_3A_3 întrucît alela A_3, recesivă față de celelalte, se manifestă fenotipic doar prin genotipul homozigot. Deci A_3 prezintă frecvența $r = 0,5$ și nu cum am presupus inițial. Dacă 0,25 este frecvența fenotipului alelei A_3, reprezentat numai prin genotipul A_3A_3, celelalte două frecvențe vor aparține :

— fenotipului alelei A_1 reprezentat prin genotipii $A_1A_1 + A_1A_2 + A_1A_3$ cu frecvențele : $p^2 + 2pq + 2pr = p^2 + 2p(q + r) = p^2 + 2p(1 - p) = p^2 + 2p - 2p^2 = 2p - p^2$;

— fenotipului alelei A_2 reprezentat prin genotipii $A_2A_2 + A_2A_3$ cu frecvențele $q^2 + 2qr = q(q + 2r)$. Știind că $r = 0,5$, $2r = 1$.

Deci ecuația devine $q^2 + q = q(q + 1)$.

Se pune apoi problema de a se identifica care dintre cele două este ecuația frecvenței 0,19 și care a frecvenței 0,56. Ecuația $q^2 + q$ aparține unei frecvențe care se poate disocia în două valori (q^2 și q) ; însumate formează frecvența inițială. Una dintre valorile componente trebuie să fie pătratul valorii celeilalte, deci frecvența inițială trebuie să cuprindă suma unei valori și a pătratului ei. Să încercăm cu 0,19 care este cea mai mică. Ea poate cuprinde doar pătratele pentru 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 pentru că $(0,5)^2 = 0,25$ care valoric este mai mare. Deci :

$$(0,4)^2 + 0,4 = 0,56 ;$$
$$(0,3)^2 + 0,3 = 0,39 ;$$
$$(0,2)^2 + 0,2 = 0,24 ;$$
$$(0,1)^2 + 0,1 = 0,11.$$

Nici una dintre valori nu este egală cu 0,19. Observăm însă că dacă luăm $q^2 + q = 0,56$; $q = 0,4$; $q + r = 0,4 + 0,5 = 0,9$; $p = 1 - (q + r) = 1 - 0,9 = 0,1$. Deci :

— fenotipul el este $2p - p^2 = 0,2 - 0,01 = 0,19$;

— fenotipul 2 este $q^2 + q = 0,16 + 0,4 = 0,56$;

— fenotipul 3 este $r^2 = 0,25$.

Cele trei frecvențe fenotipice obținute prin calcul verifică frecvențele inițiale, deci frecvențele calculate pentru alele verifică ipoteza de calcul.

■ **Exercițiul 3.** Fie frecvențele fenotipice 0,16 ; 0,36 ; 0,48.
Care este frecvența alelelor ?

Rezolvare : două frecvențe sînt valori pătrate respectiv $0,16 = (0,4)^2$ și $0,36 = (0,6)^2$. Se verifică $0,4 + 0,6 = 1$ și $2 \times 0,4 \times 0,6 = 0,48$. Deci $p = 0,4$ și $q = 0,6$ sau $p = 0,6$ și $q = 0,4$.

■ **Exercițiul 4.** Fie frecvențele fenotipice 0,16 și 0,84. *Care sînt frecvențele alelelor* ?

R : $p = 0,6$; $q = 0,4$.

Scanned with OKEN Scanner

■ **Exercițiul 5.** Fie frecvențele fenotipice 0,04 ; 0,84 și 0,12. *Care sînt frecvențele alelelor ?*

R: $p = 0{,}6$; $q = 0{,}2$; $r = 0{,}2$.

■ **Exercițiul 6.** Fie frecvențele fenotipice 0,04 ; 0,48 și 0,64. *Care sînt frecvențele alelelor ?*

R: $p = 0{,}2$; $q = 0{,}8$ sau $p = 0{,}8$; $q = 0{,}2$.

2) *Rolul mutațiilor în evoluție.* Pentru procesul evolutiv sînt importante mutațiile care se produc cu o rată constantă în populație de la o generație la alta numite *mutații recurente*. Constanța procesului se traduce prin manifestarea unei presiuni a mutațiilor recurente asupra structurii genetice din populație. Se pot desemna două situații : cînd se produc mutații în sens unic și cînd se produc mutații în dublu sens.

a. *Mutațiile în sens unic* (mutațiile ireversibile) au loc exclusiv prin modificarea alelei A_1, numită de obicei și „sălbatică", în alela A_2 sau într-un grup de alele (A_2, A_3...etc.). Dacă frecvența alelei inițiale A_1 este p_0, iar rata mutației directe ($A_1 \rightarrow A_2$) este u, atunci înseamnă că în fiecare generație frecvența alelei A_1 scade cu up_0, deci :

(1) $p_1 = p_0 - up_0$; (2) $\triangle p = p_1 - p_0 = -up_0$;

(3) $q_1 = q_0 + up_0$; (4) $p + q = 1$;

(5) $q_1 = q_0(1 + u) - uq_0$; (6) $\triangle q = up_0 = u(1 - q_0)$.

Cu indicii 0 și 1 se notează generația, iar cu $\triangle p$ și $\triangle q$ mărimea modificării frecvențelor pe parcursul unei generații.

Este vizibil faptul că în cazul mutațiilor ireversibile, dacă nu intervin alți factori evolutivi, alela „sălbatică" tinde să dispară după un număr de generații, fiind înlocuită cu alela nouă sau alelele noi. Dacă notăm cu t numărul de generații și cu e baza logaritmilor naturali, frecvențele alelelor, A_1 și A_2 vor fi :

(7) $p_t = p_0 e^{-ut}$;

(8) $\ln p_t = \ln p_0 - ut$;

(9) $q_t = 1 - p_0 e^{-ut}$.

Evoluția frecvențelor este de factură logistică, adică la valori mici și mari modificările sînt mici, iar la valori medii sînt mari.

b. *Mutațiile în sens dublu* (mutațiile reversibile) se produc prin modificarea alelei A_1 în A_2 cu rata u și a alelei A_2 în A_1 cu rata v. Modificările frecvențelor alelelor după o generație vor fi deci :

(10) $p_1 = p_0 - up_0 + vq_0$; (11) $\triangle p = vq_0 - up_0$;

(12) $q_1 = q_0 - vq_0 + up_0$; (13) $\triangle q = up_0 - vq_0$.

Din cauza reversibilității procesului, dacă alți factori evolutivi nu ar interveni s-ar ajunge la o frecvență de echilibru $\hat{p}$ a alelei A_1 și respectiv $\hat{q}$ a alelei A_2, care vor avea următoarele valori :

$$(14)\ \hat{p} = \frac{v}{u+v}; \quad (15)\ \hat{q} = 1 - \hat{p} = \frac{u}{u+v}.$$

Scanned with OKEN Scanner

Existența unei frecvențe de echilibru face ca după t generații alela A_1 să aibă frecvența :

$$(16)\quad p_t = \hat{p} + (p_0 - \hat{p})e^{-(u+v)t}.$$

Valoarea parantezei se determină astfel : 1) se calculează diferența $p_0 - p$; 2) se transformă în logaritmi naturali ; 3) se adună algebric cu $-(u + v)$; 4) se calculează antilogaritmul natural.

În cadrul modelării Simplex am reprezentat mutația recurentă ireversibilă prin înlocuirea unei bile N (genotip A_1A_1) cu o bilă R (genotip A_1A_2).

Care este rata u *a mutației* ?

Răspunsul se obține din ecuația (1) :

$$(17)\quad u = \frac{p_0 - p_1}{p_0}.$$

Se înțelege deci că mărimea lui u este dependentă atît de p_0, cît și de p_1. De exemplu, se produce înlocuirea unei bile N cu o alta R în două situații, cînd $p_0 = 0{,}9$ și cînd $p_0 = 0{,}5$.

Pentru $p_0 = 0{,}9$ va exista următorul rezultat :

$(p_0 = 0{,}9 \quad q_0 = 0{,}1) \quad P_0 = 0{,}81 \quad H_0 = 0{,}18 \quad Q_0 = 0{,}01$

$(p_1 = 0{,}895 \quad q_1 = 0{,}105) \quad P_1 = 0{,}80 \quad H_0 = 0{,}19 \quad Q_0 = 0{,}01$

$$u = \frac{0{,}9 - 0{,}895}{0{,}9} = 0{,}0055.$$

Pentru $p_0 = 0{,}5$ se va obține rezultatul :

$(p_0 = 0{,}5 \quad q_0 = 0{,}5) \quad P_0 = 0{,}25 \quad H_0 = 0{,}5 \quad Q_0 = 0{,}25$

$(p_1 = 0{,}495 \quad q_1 = 0{,}515) \quad P_1 = 0{,}24 \quad H_1 = 0{,}51 \quad Q_1 = 0{,}25$

$$u = \frac{0{,}5 - 0{,}495}{0{,}5} = 0{,}01.$$

Cum se poate realiza modelarea Simplex sau Graphoduplex cu păstrarea lui u = *constant* ?

Să luăm de exemplu $u = 0{,}1$ pentru $p_0 = 0{,}9$ sau $p_0 = 0{,}5$. Valorile lui u și p_0 fiind determinate înseamnă că doar p_1 se poate modifica. În funcție de modificarea lui se determină P_1, H_1 și Q_1 și se apreciază că proporția din P_0 trebuie înlocuită prin H_0 pentru ca u să rămînă neschimbat. Astfel, pentru $p_0 = 0{,}9$ și $u = 0{,}01$, utilizînd ecuația (1) se obține :

$$p_1 = 0{,}9 - 0{,}01 \times 0{,}9 = 0{,}891 \quad P_1 = 0{,}79 \quad H_1 = 0{,}20 \quad Q_1 = 0{,}01$$

$$P_0 = 0{,}81 \quad H_0 = 0{,}18 \quad Q_1 = 0{,}01$$

$$-2 \qquad +2$$

Rezultă deci că, două bile N trebuie înlocuite prin tot atîtea bile R sau 0,02 P trebuie schimbat cu 0,02 H.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru $p_0 = 0,5$ și $u = 0,01$:

$p_1 = 0,5 - 0,01 \times 0,5 = 0,495$ $\quad P_0 = 0,245\ H_1 = 0,495\ Q_1 = 0,25$

$P_0 = 0,250\ H_0 = 0,500\ Q_1 = 0,25$

$- 0,005 \quad + 0,005$

În cazul modelării Graphoduplex se poate realiza această înlocuire, dar pentru modelările cu bile este imposibil deoarece o bilă este egală cu 0,01. Se va înlocui deci o bilă N cu una R deși va rezulta o rată $u = 0,0055$.

■ **Exercițiul 7.** Pentru $P_0 = 0,49$; $H_0 = 0,42$; $Q_0 = 0,09$ și $P_1 = 0,4886$; $H_1 = 0,4206$; $Q_1 = 0,0906$.

Care este valoarea lui u ?

R : 0,0014285.

■ **Exercițiul 8.** *Cît de mare este* $\triangle q$ *pentru datele din exemplul 7 ?*

R : 0,0004285.

■ **Exercițiul 9.** Considerînd că într-o populație cu $p_0 = 0,8$ se produc numai mutații ireversibile cu rata $u = 10^{-6}$.

Care va fi frecvența alelei A_1 *după 1 000 de generații dacă nu intervin alți factori ?*

R : 0,3079.

■ **Exercițiul 10.** Într-o populație se produc mutații reversibile cu $u = 10^{-6}$ și $v = 10^{-7}$.

Care va fi valoarea lui $\hat{p}$?

R : 0;090909.

■ **Exercițiul 11.** Într-o populație se produc mutații cu ratele din exercițiul 10.

Ce frecvență va avea alela A_1 *după 100 de generații cînd* $p_0 = 0,4$? *Dar după 200, 300, 400 și 500 generații ? Trasați graficul modificării frecvenței p pe acest interval.*

R (în ordine) : 0,39997 ; 0,39494 : 0,39991 ; 0,39987 ; 0,39983.

Observați cît de lentă este modificarea frecvenței alelelor din cauza ratei scăzute a mutațiilor.

3) *Rolul recombinărilor genetice în evoluție.* Recombinările genetice se realizează în procesul de formare al celulei ou fie prin alcătuirea mendeleeană a noului genotip din cromozomii paterni și materni, fie printr-o fază anterioară, cea de diviziune reducțională (meiotică), cînd se formează gameții și cînd, în unele stadii ale profazei (v. pag. 57) are loc procesul de crossing-over. Prin recombinare genetică se refac, în fiecare generație, genotipii eliminați de selecție încît se poate considera că rolul procesului recombinării este de a menține o largă variabilitate a populației. Regula fundamentală a recombinărilor este probabilistică. Genotipii noii generații prezintă frecvențele corespunzătoare dezvoltării binomului frecvențelor alelelor din generația precedentă (a se

vedea echilibrul Hardy-Weinberg). Grafic, acest fapt se reprezintă sub forma unui pătrat. De exemplu, pentru două alele cu frecvențele p (pentru A_1) și q (pentru A_2) vor rezulta următoarele genotipuri :

		A_1 (p)	A_2 (2)	♂
♀	A_1 (p)	A_1A_1 (p^2)	A_1A_2 (pq)	
	A_2 (q)	A_1A_2 (pq)	A_2A_2 (q^2)	

Dacă participă în recombinare n gene diferite fiecare cu cîte l alele se vor forma $[l(l + 1)/2]^n$ genotipuri. Numai pentru 8 gene diferite (ceea ce este un număr extrem de mic), fiecare, în medie, cu cîte 2 alele se vor forma 19 683 genotipuri.

4) *Rolul migrațiilor în evoluție*. Prin migrații se realizează între populații un adevărat flux genetic, mecanism de integrare a speciei și de omogenizare a structurilor genetice populaționale. Fluxul genetic se manifestă ca un proces similar și pentru speciile agame (= fără sexualitate) în sensul că genotipurile mai frecvente vor ajunge prin migrații și prin manifestarea unui avantaj adaptativ, să prezinte frecvențele cele mai ridicate și relativ aceleași valori pentru toate populațiile. Diferențele în privința mediului între populații se va manifesta corelativ prin diferențe proporționale a frecvenței genotipurilor respective.

După cum s-a arătat, migrațiile cuprind două procese simetrice : emigrările și imigrările. Ne vom ocupa numai de imigrări.

Rata imigrării (m) se desemnează a fi raportul între numărul de indivizi imigranți (M) și numărul total de indivizi după imigrare (N) :

(18) $m = M : N$.

Se pot descrie trei cazuri în privința alelei aduse prin imigrare. Ne vom referi la alela A_2 și la frecvența ei q :

a. Alela există în populație dar frecvența ei în rîndul indivizilor imigranți (q_m) este diferită de cea din populație (q_0) :

(19) $\Delta q = m(q_m - q_0)$.

Se observă că dacă $q_m > q_0$ frecvența alelei A_2 crește cu Δq, iar dacă $q_m < q_0$ ea scade simetric.

b. Alela nu există în populație :

(20) $\Delta q = mq_m$.

Frecvența ei va crește deci direct proporțional cu imigrarea.

c. Alela există în populație, dar lipsește în cadrul lotului de imigranți :

(21) $\Delta q = - mq_0$.

Este evident faptul că frecvența ei se va diminua direct proporțional cu rata imigrării și frecvența inițială a alelei.

Scanned with OKEN Scanner

■ **Exercițiul 12.** Se dă $q_0 = 0{,}48$; $q_m = 0{,}50$; $N = 10\,000$; $M = 16$. *Care este valoarea lui* q_1 ?

Indicație : $q_1 = q_0 + \triangle q$, iar $\triangle q$ se calculează după ecuația (19), în care m se calculează după ecuația (18).

R : $m = 0{,}0016$;
$\Delta q = 0{,}000032$;
$q_1 = 0{,}480032$.

■ **Exercițiul 13.** Calculați cum se modifică Δq timp de 10 generații într-o populație cu $q_0 = 0{,}48$; $q_m = 0{,}60$; $m = 0{,}001$. Efectuați graficul evoluției lui q și $\triangle q$ în funcție de t (numărul de generații).

■ **Exercițiul 14.** Într-o populație $q_0 = 0{,}3$; $q_m = 0{,}5$; $p_0 = 0{,}7$; $r_m = 0{,}55$ (cu r_m s-a notat frecvența alelei A_3 la imigranți) ; $m = 0{,}01$.

Cît este valoarea lui $\triangle p$, $\triangle q$ și $\triangle r$?

Indicație : (22) $\triangle q = m/3(q_m + r_m - p_0 - q_0) = 0$.

R : $\triangle p = -0{,}007$;
$\triangle q = 0$;
$\triangle r = 0{,}055$.

■ **Exercițiul 15.** *Care sînt valorile pentru* p_1, q_1 *și* r_1 *pentru o populație cu caracteristicile din exercițiul 14* ?

Indicație : După calculul pentru $p_1 (= p_0)$; $q_1 = q_0 + \Delta q)$ și r_1 $(= \triangle r)$ se află valoarea $T = p_1 + q_1 + r_1$. Frecvențele căutate sînt de fapt p_1/T ; q_1/T și r_1/T.

R : $p_1 = 0{,}694041$;
$q_1 = 0{,}300451$;
$r_1 = 0{,}005508$.

5) *Rolul driftului genetic în evoluție.* Driftul genetic este procesul de modificare al frecvenței genelor datorat numărului mic de gameți participanți la alcătuirea genotipurilor populației. Noțiunea a fost introdusă de către Sewall Wright (1921), cercetător care a avut și meritul fundamentării procesului sub aspect cantitativ-matematic. Driftul se produce în populațiile mici, alterînd evoluția previzibilă a frecvenței alelice datorate legităților matematice ale proceselor genetice populaționale (mutație, recombinări, migrații, selecție sexuală și selecție naturală). După Wright mărimea populației se definește în funcție de N_e sau *mărimea efectivă de reproducere* determinată de numărul de indivizi reproducători care reprezintă doar o parte din totalul populației (N). Valorile lui N și N_e se estimează prin metode ecologice de prelevare a probelor sau de captură-recaptură. O populație este afectată de drift dacă fiecare din produșii $4\,N_e u$, $4\,N_e m$ și $4\,N_e s$ sînt mai mici decît unitatea, unde u = rata mutațiilor directe, m = rata migrațiilor, s = coeficientul de selecție al genotipului.

Efectul driftului genetic se manifestă prin realizarea unor diferențe însemnate între populațiile mici. El se mai manifestă și în populațiile mari compartimentate reproductiv. Rezultatul este că populațiile mici se deosebesc mult mai mult ca frecvență genică q decît populațiile mari. Mărimea dispersiei valorii pentru q în diferite populații mici față de media comună $\overline{q}$ este dată de studiul varianței acestora. Succint se poate spune că, în timp ce media rămîne relativ constantă de la o generație la alta varianța crește.

Scanned with OKEN Scanner

■ **Exerciţiul 16.** *O populaţie de 100 000 indivizi dintre care* $N_e = 30\%$ *este supusă oare acţiunii driftului, ştiind că se manifestă o rată a mutaţiilor* $u = 10^{-6}$? *Dar dacă rata creşte la* $= 10^{-5}$?

R : nu pentru 10^{-6}, da pentru 10^{-5}.

■ **Exerciţiul 17.** Într-o populaţie cu $N_e = 2\,000$ se manifestă o rată a migraţiei $m = 0{,}1$.

Este populaţia afectată de drift?

R : nu.

■ **Exerciţiul 18.** *Cît de mare trebuie să fie o populaţie cu* $m = 0{,}1$ *pentru a fi afectată de drift?*

R = 2 indivizi.

■ **Exerciţiul 19.** Ştiind că pentru forma carbonaria din populaţiile de *Biston betularia* $s = 0{,}27$, *se poate considera că acestea sînt afectate de drift?* Argumentaţi.

R : nu.

6) *Rolul selecţiei sexuale în evoluţie.* Selecţia sexuală prezintă ecuaţii calculate după aceleaşi principii ca selecţia naturală. Rezultatul adaptativ al acţiunii selecţiei sexuale, sub imperiul „confirmării" sale de către selecţia naturală îl reprezintă accentuarea caracterelor perigamice.

7) *Rolul selecţiei naturale în evoluţie este socotit fundamental şi de către teoria sintetică a evoluţiei,* ca şi de darwinismul clasic. Se consideră că selecţia naturală acţionează ca un mecanism de conexiune inversă de reglare de către mediu a structurii genetice a populaţiei. Prin selecţia naturală se înţelege supravieţuirea (sau mortalitatea) diferită a fenotipurilor. Calculul modificărilor pe care le produce selecţia naturală asupra frecvenţei genelor şi genotipurilor a fost realizat pentru prima dată de către R. F i s h e r în 1930. Redăm succint logica calculului aplicată la cazul genotipurilor dialectice cu alela A_1 dominantă, iar selecţia elimină preferenţial genotipul recesiv. Estimarea porneşte de la definirea valorii adaptative (V) a fiecărui fenotip. În cazul citat vor fi două : fenotipul alelei dominante ($A_1A_1 + A_1A_2$) şi fenotipul alelei recesive (A_2A_2).

Valoarea adaptativă a fenotipurilor se determină în funcţie de fenotipul cu supravieţuirea maximă. Acesta este considerat $V = 1$ sau 100%, în timp ce pentru celelalte fenotipuri se calculează valoarea adaptativă procentual. Proporţiile supravieţuirii se calculează prin metode ecologice.

Coeficientul de selecţie (s) este egal cu proporţia procentuală de indivizi eliminaţi :

(23) $s = 1 - V$

Cînd $V = 1$; $s = 0$.

În situaţia celor trei genotipuri dialelice, dacă fenotipul alelei dominante este avantajat de selecţie (supravieţuire 100%), iar din fenotipul alelei recesive supravieţuiesc $(1 - s)$ indivizi, atunci după o generaţie vor rămîne proporţional $1 - sq^2$ indivizi în populaţie :

(24) $1 \times p^2 + 1 \times 2pq + (1 - s)q^2 = (p^2 + 2pq + q^2) - sq^2 = 1 - sq^2$.

Dacă totalul este diferit de 1, frecvența fiecărui genotip se va estima prin produsul frecvenței inițiale cu valoarea adaptativă împărțit la total. Deci, după o generație de manifestare a selecției naturale genotipurile vor avea următoarele frecvențe:

(25) $P_1 = \frac{p^2}{1 - sq^2}$;

(26) $H_1 = \frac{2pq}{1 - sq^2}$;

(27) $Q_1 = \frac{q^2(1 - s)}{1 - sq^2}$.

Frecvențele p_1 și q_1 se vor calcula astfel:

(28) $p_1 = P_1 + 1/2\ H_1 = \frac{p_2 + pq}{1 - sq^2}$;

(29) $p_1 = \frac{p(p + q)}{1 - sq^2}$;

(30) $p_1 = \frac{p}{1 - sq^2}$;

(31) $q_1 = Q_1 + 1/2\ H_1 = \frac{q^2(1 - s) + pq}{1 - sq^2}$;

(32) $q_1 = \frac{q^2 - sq^2 + (1 - q)q}{1 - sq^2}$;

(33) $q_1 = \frac{q - sq^2}{1 - sq^2}$.

Luînd drept criterii de clasificare modul în care selecția naturală acționează asupra genotipurilor dialelice (cu sau fără dominanța unei alele) se descriu șase cazuri de selecție naturală pe care le sintetizăm în tabelul de mai jos:

Cazul	Valoarea adaptativă			q_1	Δq
	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2		
1	1	1	(1−s)	$\frac{q - sq^2}{1 - sq^2}$	$\frac{pq^2s}{1 - sq^2}$
2	1	(1−s)	1	$\frac{q - pqs}{1 - 2pqs}$	$-\frac{pqs(p - q)}{1 - 2pqs}$
3	(1−s)	1	1	$\frac{q}{1 - sp^2}$	$+\frac{p^2qs}{1 - sp^2}$
4	1	$(1-s_1)$	$(1-s_2)$	$\frac{q - pqs_1 - q^2s_2}{1 - 2pqs_1 - q^2s_2}$	$-\frac{pqs_1(p-q) + pq^2s_2}{1 - 2\,pqs_1 - q^2s_2}$
5	$(1-s_1)$	1	$(1-s_2)$	$\frac{q - q^2s_2}{1 - p^2s_1 - q^2s_2}$	$+\frac{pq(ps_1 - qs_2)}{1 - p^2s_1 - q^2s_2}$
6	$(1-s_1)$	$(1 - s_2)$	1	$\frac{q(1 - ps_2)}{1 - p^2s_1 - 2pqs_2}$	$+\frac{p^2qs_1 - pqs_2(p - q)}{1 - p^2s_1 - 2pqs_2}$

Scanned with OKEN Scanner

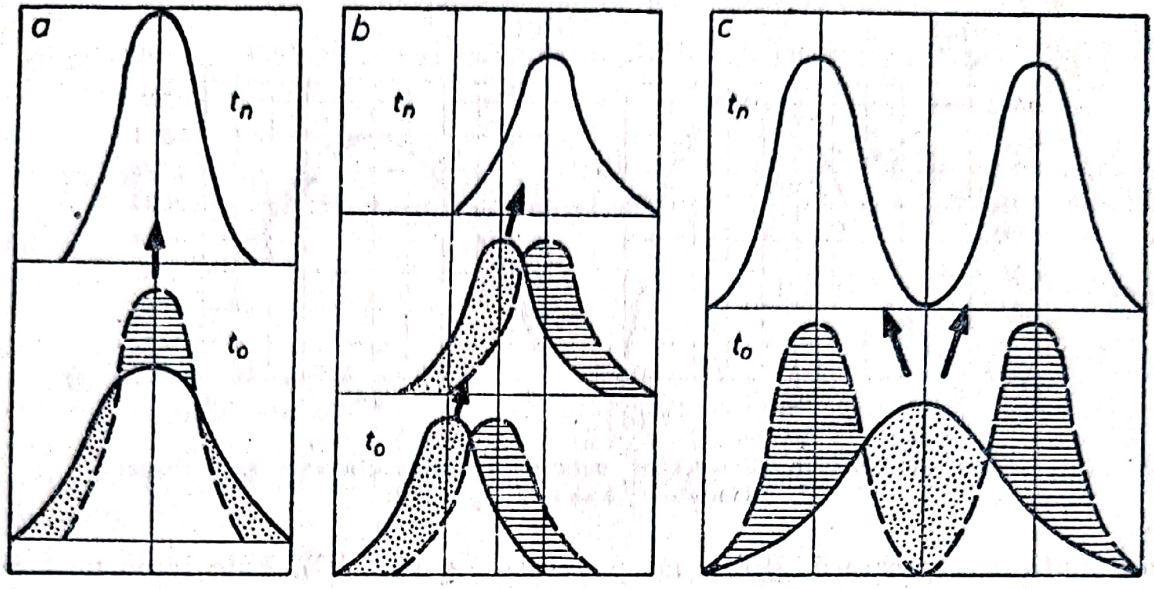


Figura 58. Tipurile fundamentale de selecţie naturală :
a — stabilizatoare ; *b* — direcţională ; *c* — disruptivă ; punctat=indivizi eliminaţi în intervalul $t_0 \rightarrow t_n$; haşurat=indivizi păstraţi suplimentar faţă de variabilitatea iniţială ; săgeata indică direcţia deplasări valorii medii.

Exemplul pentru care s-au făcut calculele în care alela A_2 este recesivă, iar selecţia naturală elimină homozigotul recesiv formează cazul 1.

Clasificarea prezentată vizează o situaţie simplă cuprinzînd cazuri elementare de acţiune a selecţiei naturale. Dacă însă se ţine seama de faptul că genotipurile nu se referă la o singură genă cu două forme alelice, ci la toate caracterele individuale, cel puţin cele pregnante, numărul de cazuri de selecţie naturală, după criteriile citate, se apropie de infinit. În această situaţie s-a realizat o tipologie după modul cum selecţia naturală afectează variabilitatea fenotipică în ansamblu. Se descriu trei tipuri fundamentale (fig. 58) :

a. *selecţia stabilizatoare* de eliminare a fenotipurilor extreme şi păstrarea a celor medii ; rezultatul este păstrarea caracterelor fundamentale ale populaţiei ;

b. *selecţia direcţională* de eliminare a fenotipurilor minime (sau maxime) şi păstrare a celor din extrema opusă ; rezultatul constă în modificarea mediei populaţiei în direcţia fenotipurilor păstrate ;

c. *selecţia disruptivă* de eliminare a fenotipurilor medii şi păstrarea extremelor ; rezultatul constă în realizarea *divergenţei evolutive* pînă la eliminarea totală a indivizilor intermediari şi constituirea a două sau mai multe unităţi taxonomice independente şi de-sine-stătătoare. Eliminarea indivizilor medii se traduce prin manifestarea *hiatusului morfologic* şi *izolarea reproductivă*.

Selecţia naturală produce modificări Δq de valori diferite. Eficacitatea maximă a selecţiei este desemnată de valoarea maximă $\pm\Delta q$. Grafic pe

Scanned with OKEN Scanner

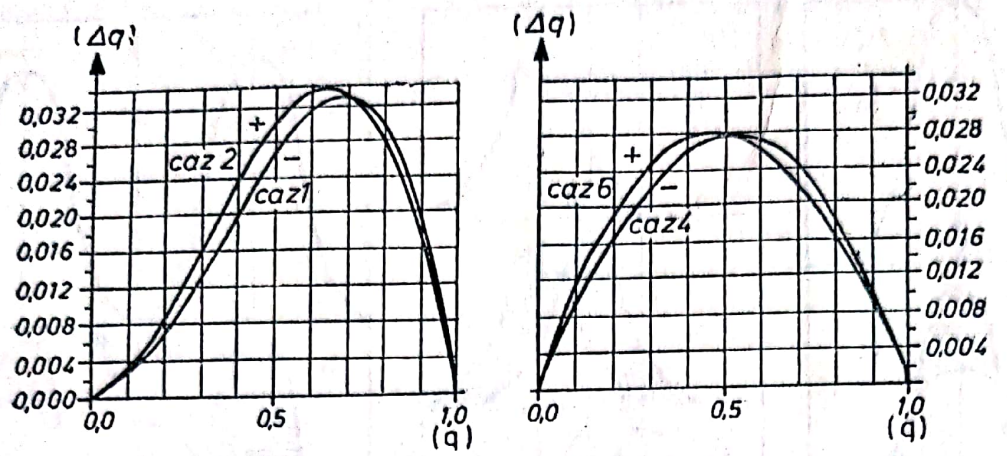


Figura 59 Eficacitatea selecției naturale în patru din cele șase cazuri elementare; $s = s_1 = s_2 = 0{,}2$.

ordonată se reprezintă $\pm\Delta q$, iar pe abscisă q (fig. 59). Este important de observat faptul că selecția naturală produce schimbări aproape infinitezimale cînd q se apropie de 0 sau 1. În acest fel, eliminarea totală a unei alele este practic imposibilă exclusiv prin selecția naturală.

■ **Exercițiul 20.** Într-o populație de fluturi se determină un dimorfism coloristic. Experimental se constată că din 126 fluturi melanici fixați în mediul lor de viață, 36 sînt găsiți și mîncați de păsări, în timp ce din 140 fluturi normali sînt consumați doar 18.

Care este coeficientul de selecție pentru cele două fenotipuri (melanic și normal)?

Indicație: calculați întîi pierderile la sută, apoi procentul supraviețuitorilor. Luați procentul cel mai mare al supraviețuitorilor drept 100% și calculați V pentru celălalt fenotip; $s = 1 - V$.

R: s (melanic) = 0; 18196722
s (normal) = 0.

■ **Exercițiul 21.** Într-o populație se manifestă cazul 1 de selecție; $q_0 = 0{,}6$; $s = 0{,}2$.

Care va fi valoarea lui p_1?

R: 0,431034

■ **Exercițiul 22.** O populație este alcătuită din trei tipuri de indivizi după culoare: melanici (*M*), roz (*R*), și albi (*A*). Formele *M* și *A* supraviețuiesc în proporție de 0,75 în timp ce cele *R* doar în proporție de 0,7. Din părinți *R* se obțin descendenți din toate cele trei tipuri.

Ce caz de selecție este acesta (după tabel) *și care este valoarea lui s pentru R?*

R: caz 2, s = 0,0667.

■ **Exercițiul 23.** Dacă $q_0 = 0{,}2$, iar selecția elimină fenotipul alelei dominante cu $s = 0{,}15$, *care va fi valoarea lui* p_1?

Indicație: caz 6 de selecție naturală cu $s_1 = s_2$.

R: 0,7944

Scanned with OKEN Scanner

■ **Exerciţiul 24.** *Care este valoarea lui Δq pentru cazul citat în exerciţiul 23?*

R: +0,0056.

■ **Exerciţiul 25.** *Care va fi frecvenţa genotipurilor după o generaţie cu* $P_0 = 0,09$; $Q_0 = 0,49$; $H_0 = 0,42$, *cînd selecţia elimină genotipul dominant cu* $s = 0,27$?

R: $P_1 = 0,0798$; $Q_1 = 0,5147$; $H_1 = 0,4055$.

■ **Exerciţiul 26.** Populaţiile de *Biston betularia* din pădurile poluate suferă o evoluţie în conformitate cu cazul 1 de selecţie naturală. Să considerăm $s = 0,23$, iar $p_0 = 0,01$. Calculaţi evoluţia valorii lui p (frecvenţa alelei A_1) timp de 10 generaţii şi trasaţi graficul acesteia în funcţie de t (numărul de generaţii).

2.4. ADAPTĂRILE ORGANISMELOR CA ARGUMENTE ÎN FAVOAREA EVOLUŢIONISMULUI

Acţiunea factorilor evolutivi modifică continuu variabilitatea. Ea este definită, aşa cum s-a arătat, de o amplitudine, între valorile extreme, şi de o grupare a majorităţii valorilor individuale în jurul mediei. Pe aceste baze statistice, analiza adaptărilor morfologice şi eco-fiziologice se poate desfăşura prin studiul unui individ biologic ca reprezentat al caracteristicilor grupului sistematic urmărit. După ce se formează o imagine grosieră, recomandăm pentru aprofundarea problemei a se studia aceleaşi caracteristici pe mai mulţi indivizi. În acest fel, prin analiza unui individ se defineşte tipul adaptării grupului sistematic respectiv, iar prin studierea mai multor indivizi, variabilitatea acestui tip.

Adaptarea este o caracteristică morfo-anatomică, fiziologică, ecologică sau comportamentală, comună indivizilor unei specii şi care oferă avantaje pentru supravieţuirea speciei. Caracteristicile fenotipice citate au o determinare genetică ceea ce permite păstrarea lor de la o generaţie la alta. Adaptarea este un răspuns optim al sistemului speciei la cerinţele mediului. Se evidenţiază din acest punct de vedere rolul important de feed-back evolutiv, care îl joacă selecţia naturală în asigurarea concordanţei între cerinţele adaptative şi acţiunea factorilor evolutivi. Adaptarea are, în acelaşi timp, un caracter temporar, ţinînd seama că cerinţele se modifică în perioade diferite de existenţă ale speciei. Caracterul temporal cît şi decalajul dintre cerinţele factorilor de mediu şi răspunsul adaptativ al speciei permit a se vorbi de imperfecţiunea adaptărilor.

Adaptările sînt un răspuns la solicitări complexe din partea mediului. În mod didactic, se pot desprinde adaptări la acţiunea factorilor abiotici şi biotici deşi cel mai adesea cele două categorii se pot defini numai prin acţiunea predominantă a unei clase de factori, pentru că în realitate sînt prezente ambele acţiuni.

Analiza adaptărilor conduce în mod necondiţionat la explicaţia evoluţionistă a diversificării lumii vii. În acest fel, adaptările sînt o argumentaţie eficientă în favoarea teoriei evoluţiei speciilor.

Scanned with OKEN Scanner

2.4.1. Evidențierea principalelor caracteristici adaptative ale plantelor la acțiunea umidității

Materiale necesare : plante proaspete (*Artemisia, Medicago, Helianthus annuus*, diferite *Cactaceae, Sedum, Sempervivum, Nerium oleander*, citrice, ramuri de conifere, ramuri de tei, frunze de *Begonia*), lame, lamele, brici ascuțit pentru secțiuni, ace de disecție, eter, vată, borcane, lupă, microscop, cilindru gradat de 10 cm^3 și 250 cm^3, balon cotat de 1l.

Mod de lucru. Apa este unul dintre factorii abiotici fundamentali pentru existența organismelor. În cazul organismelor terestre umiditatea redusă a reprezentat un factor de selecție esențial care a impus realizarea de adaptări anatomo-morfologice, fiziologice sau ecologice.

În cele ce urmează indicăm cîteva observații care se pot face la plante.

A. *Observații asupra aspectului rădăcinii.* Se folosesc cîteva plante adaptate la uscăciune ca *Artemisia, Medicago, Helianthus annuus.* Prima prezintă o rădăcină mult ramificată la suprafața solului, asigurînd deci absorbția apei din straturile superficiale pe o arie mai mare. La a doua, dar mai ales, la a treia plantă, rădăcina se adînceşte mult în pămînt, absorbind apa din straturile profunde pînă la adîncimi de 1—2 m.

B. *Observații asupra adaptării plantelor la uscăciune* cu reducerea pierderilor de apă prin formarea unei epiderme pluristratificate sau acoperirea frunzelor cu o cuticulă (la *Nerium oleander*) cu un strat de ceară (citrice), un înveliș de peri pe frunze sau pe toată planta (*Helianthus annuus*). Aceste modificări se observă cu lupa. Pentru evidențierea epidermei pluristratificate se fac secțiuni fine prin limbul foliar de *Nerium oleander* ; secțiunile se așază pe lamă într-o picătură de apă și se acoperă cu lamela. Se fac observații la microscop.

C. *Micșorarea suprafeței părții supraterane în raport cu volumul la plantele xerofile.* Se fac măsurători la un cactaceu și la o discotiledonată higrofilă (de exemplu, la *Begonia*). Volumul se poate determina simplu prin diferența de nivel, într-un cilindru gradat cu volum cunoscut de apă. Suprafața cactaceului se aproximează astfel : dacă este o formă turtită (de exemplu, *Opuntia*) se măsoară pentru fiecare porțiune eliptică de tulpină suprafața unei fețe, se înmulțește cu doi și se adună suprafața muchiei. Dacă este o formă sferică sau cilindrică se estimează suprafața sferei ($S = 4\pi R^2$) sau cilindrului [$S = 2\,R(h + R)$ unde R = raza, h = înălțimea, $\pi = 3{,}1416\ldots$]. Pentru planta higrofilă, cu o formă greu de apropiat de una geometrică se măsoară separat : suprafața totală a limbului foliar (a se vedea lucrarea 2.1.1.), a tulpinii și pețiolilor. Tulpina se taie în cîteva porțiuni similar de groase și se determină suprafața după formula pentru aflarea suprafeței cilindrului : $S = 2\pi R(h + R)$. Fiecare pețiol este considerat de asemeni un cilindru cu raza R și înălțimea h. Se face suma suprafeței totale pentru fiecare dintre cele două tipuri de plante. După calculul raportului specific suprafață/volum se compară cele două valori prin testul t sau d (a se vedea capitolul anterior). Varianța (s^2) rezultă din măsurarea cel puțin a două exemplare de plante din fiecare tip.

D. *Observații asupra rezervelor de apă și a presiunii osmotice de la plantele xerofile.* Se vor folosi plante suculente (*Sedum, Sempervivum* dintre *Crassulaceae*, cît și diferite *Cactaceae*). Se fac secțiuni prin limb (la *Crassulaceae*) sau

Scanned with OKEN Scanner

prin tulpină (la *Cactaceae*), care se pun pe lamă într-o picătură de apă. Se taie două fîşii înguste de hîrtie care se aşază de o parte şi de alta a preparatorului, pe care se aplică apoi lamela. Se va observa parenchimul acvifer caracterizat prin celule mari cu citoplasma şi nucleul aşezate parietal, cu vacuole mari despărţite prin lame citoplasmatice. Fiziologic, citoplasma este caracterizată printr-o vîscozitate şi elasticitate ridicată. Vîscozitatea mare este expresia unei presiuni osmotice crescute care contrabalansează cantitatea mare de apă vacuolară. Sistemul vacuolar este situat central în celulă, fiind protejat de învelişul citoplasmatic parietal cu o presiune osmotică mare. În acest fel, deşi posedă rezerve importante de apă, xerofilele suculente o cedează greu.

Pentru demonstrarea acestui fapt se fac cîte două secţiuni : una prin limbul unei frunze de plantă suculentă xerofilă (o *Crassulaceae*), alta prin *Begonia*. Se vor realiza şapte secţiuni paralele care se aşază fiecare pe cîte o lamă într-o picătură de soluţie de zaharoză de concentraţii diferite. Se va lucra cu concentraţii de 0,4M, 0,5M, 0,6M, 0,7M, 0,8M, 0,9N şi 1 M. Soluţia cu o presiune osmotică de 1 M(= 1 Mol) de zaharoză, reprezentînd 22,41 atmosfere, se prepară prin cîntărirea a 342,18 g de zaharoză şi dizolvarea lor într-un balon cotat de 1 litru cu apă distilată. Soluţiile celelalte se prepară fracţionat. De exemplu, soluţia de 0,6 M se obţine din 6 cm^3 soluţie 1 M şi diferenţa pînă la 10 cm^3 este completată cu apă distilată. Cele şapte preparate se ţin circa o oră, după care se observă la microscop. Se identifică preparatul în care a început plasmoliza plantei xerofite cît şi cel în care a început plasmoliza secţiunii de *Begonia*. (Lamele sînt iniţial notate cu un indice pentru a se cunoaşte concentraţia folosită.) Presiunea osmotică se identifică prin regula de trei simple pentru fiecare caz. Astfel, dacă e la o *Crassulaceae*, începutul plasmolizei începe la 0,9 M, presiunea osmotică (PO) este :

$$PO = 22{,}41 \times 0{,}9 = 20{,}169 \text{ atmosfere.}$$

Presiunea osmotică se află deci ca un produs al concentraţiei molare a soluţiei în care se observă începutul plasmolizei cu 22,41.

După identificarea presiunilor osmotice la cele două plante valorile se pot compara ca semnificaţie prin testul d sau testul t prezentat în capitolul anterior.

2.4.2. Influenţa luminii asupra creşterii plantelor

Materiale necesare : seminţe de fasole sau cariopse de grîu, porumb, spirtieră, baloane Erlenmeyer, capsule Petri sau sticle de ceas, lupă 5^x, hîrtie de filtru sau sugativă, riglă gradată, creion, hîrtie.

Mod de lucru. Adaptarea plantelor terestre la acţiunea radiaţiilor, vizibile sau invizibile se traduce prin realizarea unui echilibru fiziologic, care permite creşterea proporţională şi armonioasă a fiecărui individ vegetal. În situaţia în care lumina este diminuată sau absentă se produc o serie de modificări ca reducerea cantităţii pigmenţilor asimilatori fotosintetizanţi sau dezechilibrul enzimatic (auxinic), care se manifestă printr-un dezechilibru de creştere. Lumina este un factor extrem de important pentru producătorii primari fiind sursa principală energetică pentru realizarea sintezei de substanţe

Scanned with OKEN Scanner

organice. Din această cauză, spre deosebire de organismele heterotrofe, buna dezvoltare individuală la plantele fotosintetizante este dependentă de recepționarea unei cantități suficiente de lumină.

Studierea dereglărilor morfo-fiziologice la organismele fotosintetizante în lipsa luminii se poate realiza pe plantule tinere. În acest scop, semințele sau cariopsele (fructele) plantelor de experiment se pun la încolțit în capsule Petri pe hîrtie de filtru umectată constant. După încolțit, jumătate din semințele germinate se păstrează la întuneric (într-un dulap), respectînd însă cerințele termice și hidrice normale, în timp ce cealaltă jumătate, menținută în condiții termice, hidrice și de lumină normală, servește ca martor. Se vor studia două aspecte.

A. *Diferența de creștere între plantele martor și cele păstrate la întuneric.* După un număr de zile, cînd se înregistrează o etiolare pronunțată a plantulelor crescute la întuneric, se poate observa și un spor de creștere. Se măsoară la lupă lungimea tulpiniței plantulelor martor și a celor crescute la întuneric. Se calculează media și varianța celor două loturi de plantule în conformitate cu indicațiile din capitolul anterior. Se compară cele două loturi prin testul t sau d.

B. *Etiolarea plantulelor crescute la întuneric.* Se separă pentru lotul martor și lotul de la întuneric (partea supraterană a plantulelor). Dacă există încă cotiledoane acestea se elimină. Se cîntăresc cîte 5 g din partea supraterană pentru ambele loturi din care se extrag pigmenții clorofilieni. Pentru fiecare lot materialul vegetal se introduce într-un balon Erlenmeyer. Se adaugă aceeași cantitate de alcool, suficientă pentru a acoperi materialul vegetal. Se acoperă fiecare balon cu o sticlă de ceas și se fierbe la foc mic pînă țesuturile se decolorează total.

Atenție ! Să se respecte indicațiile de fierbere, altfel alcoolul ia foc !

Soluțiile obținute din lotul martor și din cel de experiment se introduc în cîte un cilindru gradat.

Se adaugă alcool în cilindrul cu volum mai mic pînă la egalizare. În acest stadiu soluția lotului etiolat este mai deschisă la culoare, conținînd mai puțini pigmenți clorofilieni. În cilindrul gradat al lotului martor (mai intens la culoare) se adaugă alcool etilic pînă se obține o culoare similară cu a lotului etiolat. Se măsoară volumul lotului martor (V_m) și al celui etiolat (V_e). Proporția etiolării este exprimată de raportul V_e/V_m.

Observație: cu cît plantulele de experiment se păstrează mai mult, la întuneric, cu atît raportul V_e/V_m va avea valori mai mari. Dacă raportul $V_e : V_m$ se apropie valoric de unitate plantulele de experiment nu au fost suficient timp ținute la întuneric și etiolarea nu s-a realizat într-o măsură semnificativă.

2.4.3. Observații asupra adaptărilor morfologice datorate mutualismului (simbiozei)

Materiale necesare : plante proaspete (cu flori) de *Salvia* sp., *Primula officinalis*, indivizi de *Apis melifica*, lupă 5x, microscop, lamele, lame, ace spatulate, creion, hîrtie.

Scanned with OKEN Scanner

Mod de lucru. Mutualismul este categoria de relaţii interspecifice în care se manifestă adaptări reciproce între două specii diferite care permit avantaje pentru supravieţuire. Adaptările realizate în cadrul procesului evolutiv, creează speciilor implicate o dependenţă una faţă de cealaltă, existenţa independentă fiind dezavantajoasă sau chiar imposibilă. Un caz interesant de mutualism se realizează între insectele polenizatoare şi plantele angiosperme entomofile. În cadrul lucrării practice se vor urmări caracterele morfologice ale unor plante entomofile ca speciile de *Salvia* (jaleş) sau *Primula* (ciuboţica-cucului) şi ale albinei comune (*Apis melifica*). Adaptările plantelor citate asigură realizarea polenizării încrucişate. Prin acest proces sînt împiedicate autopolenizarea şi homozigotia.

Plantele entomofile sînt caracterizate de existenţa unui periant diferenţiat în care corola prezintă, în general, un colorit viu, cu rol de semnal vizual pentru insecte. La aceasta se adaugă ţesuturi sau celule secretoare de esenţe şi uleiuri eterice cu rol de semnal olfactiv. Cele două adaptări constituie semnale „la distanţă". Insectele polenizatoare care ajung la floare sînt atrase de către ţesuturile şi glandele nectarifere a căror secreţie este bogată în glucide, precum şi de polenul bogat în proteine, ambele constituind principalele lor surse de hrană.

La plantele cu flori zigomorfe se pare că însăşi simetria bilaterală este o adaptare legată de polenizare prin insecte. Acest fapt se poate observa la diferite specii de *Salvia* cu flori, caracterizate de o corolă de tip bilabiat. Corola este gamopetală tubuloasă, partea terminală fiind formată din două labii (buze). Buza superioară a rezultat din concreşterea a două petale, iar cea inferioară din concreşterea a trei petale. Existenţa a două buze, una superioară alta inferioară, orientează intrarea insectei polenizatoare în floare. La *Salvia* stigmatul gineceului este situat sub buza superioară, în dreptul deschiderii corolei, prin existenţa stilului arcuat. Androceul este format din două stamine fertile şi două stamine sterile (staminodii) reduse. Staminele fertile prezintă filamente arcuate care fac ca anterele să fie pe latura buzei superioare a corolei, în spatele stigmatului (spre interiorul florii). Insecta polenizatoare care pătrunde în floare stă pe buza inferioară şi mişcîndu-se spre interiorul tubului corolei, în căutare de nectar, atinge întîi cu spatele stigmatul bilobat. Pe spate ea poartă polen de la alte flori, asigurînd o polenizare încrucişată. Glandele nectarifere sînt la baza staminelor fertile. Baza de inserţie a filamentelor continuă cu două braţe : unul lung pe care se află antera, al doilea scurt, sub locul de inserţie. Acest braţ, împins de insecta care caută nectar, declanşează, printr-un mecanism fiziologic, coborîrea anterei pe spatele insectei care devine astfel transportor de polen către o altă floare. O stamină fertilă este deci similară unei cumpene de fîntînă în care, împingînd în sus capătul liber, găleata coboară. Remarcaţi dispoziţia formaţiunilor florale : la exterior stigmatul, spre interior anterele şi la baza tubului corolei glandele nectarifere. Insecta atinge întîi stigmatul, pe care depune polen străin, împinge braţul bazal al filamentului şi se încarcă cu polen de la floarea respectivă şi abia apoi ajunge cu aparatul bucal al glandele nectarifere.

La *Primula officinalis* adaptarea prin care se realizează polenizarea încrucişată constă în heterostilie. Florile de *Primula* pot fi colectate în luna mai din luminişuri, văi sau de la marginea pădurii. O disecţie atentă la lupă va permite observarea a două categorii de flori : unele cu stil scurt şi altele cu

Scanned with OKEN Scanner

stil lung. La cele cu stil scurt insecta, care pătrunde în tubul corolei, atinge anterele cu corpul. Cele cinci stamine sînt inserate pe tubul corolei spre partea superioară, avînd un filament scurt. Similar se prezintă androceul și la florile cu stil lung, numai că stilul se înalță deasupra androceului, iar stigmatul se situează chiar în planul aperturii corolei. Totodată, baza de inserție a staminelor este mult mai spre interiorul tubului corolei. Insectele care intră în astfel de flori ating stigmatul, pe care depun polen străin, și nu mai ajung la antere, care sînt situate mult mai în profunzime.

Albinele și bondarii transportă simultan în două feluri polenul : pe suprafața corpului, încărcîndu-se pasiv prin atingerea anterelor, și într-o formațiune specială de pe ultima pereche de picioare. Tarsul prezintă primul articol (cel dinspre tibie) bine dezvoltat și păros, avînd rol de periuță. Cînd insecta se încarcă cu prea mult polen în mod pasiv, se curăță cu ultima pereche de picioare ; articolul tarsal specializat reține, datorită perilor, surplusul de polen. Tibia prezintă în tot lungul ei, pe fața externă, un șanț mărginit de perișori. În această cavitate se depune polenul colectat de periuța de pe piciorul opus. Încărcarea se realizează prin frecarea picioarelor. Cele două formațiuni (de curățare și transport) se pot evidenția la albină prin detașarea perechii posterioare de picioare, punerea lor pe lamă și observarea la lupă și la un microscop cu putere slabă de mărire. Polenul cărat de albine în șanțul tibiei este depus în faguri cu rezervă trofică.

În excursiile din timpul primăverii sau verii în afara localității, ca și în grădini și parcuri, se poate surprinde comportamentul albinelor legat de transportul activ de polen. O albină, după ce s-a încărcat pasiv cu polen, nu părăsește floarea. Întîi își trece picioarele posterioare pe laturile abdomenului și pe partea lui dorsală. Apoi își freacă picioarele posterioare unul de celălalt. Reia apoi mișcările în ordinea citată, numărul de repetiții fiind legat de cantitatea de polen preluată pasiv. Menționăm că este vorba de un act reflex și nu de un proces conștient. Reflexul „de curățare a corpului" este declanșat de creșterea greutății și dificultatea de start a zborului.

2.4.4. Adaptarea aparatului masticator la regimul de hrană prădător

Materiale necesare : exemplare de *Blatta orientalis* (sau de ortoptere), *Formicidae*, *Eurydema* (ploșnița cerealelor), *Culex* (sau *Anopheles*), cranii preparate sau mulaje de *Lepus*, *Ovis*, *Felis*, lupă 5x, microscop, ace de disecție, lame, lamele, creion, hîrtie.

Mod de lucru. Prădătorii sînt consumatori primari (fitofagi) sau secundari (toți carnivori). În cadrul aceluiași tip de organizare diversificarea grupurilor în funcție de tipul de hrană a condus la apariția unor caractere specifice.

La insecte există o tipologie foarte variată de aparate bucale. Propunem a se analiza comparativ aparatul bucal pentru rupt și mestecat de la o insectă vegetariană sau detritivoră (ca *Blatta* sau diferite ortoptere) și de la o insectă carnivoră (un formicid).

Recunoașteți părțile componente ale armăturii bucale. Remarcați mărimea mandibulelor la forma carnivoră. Apreciați de cîte ori se cuprinde lungimea

Scanned with OKEN Scanner

mandibulei în cea a maxilei la forma vegetariană și carnivoră. *Este această diferență semnificativă ?* Dacă răspunsul pare afirmativ, *cum se poate demonstra acest adevăr ?*

Indicație : studiați testele de semnificație din capitolul 2.3.1.

Specializări interesante ale aparatului digestiv se pot studia la insectele care se hrănesc cu sucuri vegetale sau sînge, formele respective fiind fitofage și respectiv hemofage. În ambele cazuri se recunoaște un aparat bucal pentru înțepat și supt descris la hemiptere și nematocere (țînțari). Preparatele se vor analiza comparativ, ilustrînd un înalt grad de convergență evolutivă.

În mod similar se poate determina diferențierea morfofuncțională a dentiției la mamiferele carnivore și vegetariene (ierbivore și rozătoare). Recomandăm recunoașterea inițială pe preparat a categoriilor de dinți incisivi, canini, premolari și molari și alcătuirea formulei dentare. Se vor recunoaște următoarele formule dentare :

— pentru *Lepus* : $\frac{ICPmM}{2.0.3.2.}{1.0.2.3.}$;

— pentru *Ovis* : $\frac{0.0.3.3.}{3.1.3.3.}$;

— pentru *Felis* : $\frac{3.1.3.1.}{3.1.2.1.}$.

La rozătoare se remarcă forma și mărimea primei perechi de incisivi, ca și lipsa caninilor. La rumegătoare se va observa existența unui spațiu (diastemă) între canini și premolari, ca și forma specială a crestelor molarilor (selenodanți). Pentru dentiția de carnivor se vor remarca caninii și carnasierele. Ultimul premolar superior și primul molar inferior au căpătat o funcționalitate de canin, fiind diferențiați față de restul premolarilor și molarilor. Sînt desemnați cu numele de carnasiere.

Cantitativ se poate realiza măsurarea înălțimii celor patru tipuri de dinți și calcula raporturile : incisivi/molari, canini/molari, premolari/molari. Pentru carnivore se va calcula și raportul carnasiere/molari.

După calcul comparați valorile fiecărui raport pentru *Lepus*, *Ovis* și *Felis*.

Ce concluzii puteți trage ? Diferențele obținute prezintă o semnificație biologică ? Dacă da, arătați în ce constă ea.

2.4.5. Adaptări la viața parazitară

Materiale necesare : plante atacate de *Cuscuta*, exemplare de *Fasciola* sp., *Taenia* sp. și nematode parazite ; microscop, lupă 5x, bisturiu, ace spatulate, lame, lamele, albastru de metilen, creion, hîrtie.

Mod de lucru. Se vor evidenția cîteva adaptări de factură morfo-anatomică și fiziologică caracteristice ectoparaziților și endoparaziților.

Lucrările practice privind viermii paraziți sînt prezentate de către N. Șanta și colaboratori (1962) și M. Suciu și A. Popescu (1975) ; asupra indicațiilor privind tehnica de lucru nu mai revenim în cele ce urmează. Pentru observații asupra unor ciuperci parazite (ca *Synchytrium endobiotium* și *Puccinia graminis*) recomandăm lucrarea lui M. Andrei, I. Anghel, I. Popescu și E. Stoica (1975).

Scanned with OKEN Scanner

— Ectoparaziții prezintă, în ansamblul lor, modificări mai puțin profunde față de rudele lor libere. În principal, adaptările la viața parazitară sînt legate de aparatul destinat exploatării organismelor gazdă.

Un parazit vegetal cunoscut și combătut în agricultură este *Cuscuta* sp. Parazitul se comportă ca o plantă volubilă, avînd din loc în loc pe tulpină haustori ce penetrează gazda, extrăgînd din vasele liberiene seva elaborată. Se efectuează secțiuni prin tulpina plantei gazdă și haustori. Se fac observații la microscop, încercînd a se depista țesuturile celor două plante.

Colectați planta gazdă împreună cu sistemul radicular și sol ; cultivați-o în ghivece. Observați starea fiziologică a parazitului. Stropiți solul cu o soluție slabă de albastru de metilen. După circa o oră efectuați secțiuni printr-o plantă gazdă și haustori. Observați dacă colorantul a ajuns în haustori. Dacă nu, după încă o oră, repetați operația pentru altă plantă, și așa mai departe. Din momentul în care se observă pătrunderea colorantului în haustori reduceți intervalul de realizare a secțiunilor. Comparînd, la sfîrșit, toate secțiunile veți avea la dispoziție un „film" al etapelor extragerii de către parazit a soluției de colorant din planta gazdă.

— *Endoparaziții* sînt caracterizați prin existența unor formațiuni specializate pentru extragerea hranei din corpul gazdei. Endoparaziții cavitari, de exemplu, cei cu sediul în aparatul digestiv, prezintă organe de fixare sau cu o capacitate ridicată de mobilitate ; ei au și o cuticulă izolatoare față de acțiunea chimică a sucurilor gastrice. Toți paraziții sînt caracterizați de o prolificitate ridicată.

Organe specifice de fixare se pot observa la viermii inferiori ; ele sînt reprezentate prin ventuze (la *Fasciola*, *Taenia*) sau cîrlige (*Taenia*). Cînd parazitul se hrănește cu secreții ale glandelor anexă tubului digestiv, orificiul bucal poate fi situat în interiorul unei ventuze. De exemplu, la *Fasciola* orificiul buco-anal se poate observa în ventuza bucală situată terminal. (Parazitul citat este încadrat în încrengătura *Plathelminthes*, care pe scara animală se găsește într-un stadiu de evoluție primitiv în sensul că nu s-a diferențiat un orificiu anal. Acest fapt nu este o adaptare la viața parazitară, ci reflectă un plan de organizare primitiv.)

Rolul protector al cuticulei se demonstrează prin introducerea unor nematozi paraziți în soluții acide și alcaline. Se lasă cîteva ore și se studiază stratul cuticular la microscop comparativ cu cel al viermilor proaspeți. În acest scop, se separă porțiuni din teaca musculo-cutanee și se privesc la exterior sau se efectuează secțiuni transversale prin paraziți, existînd astfel posibilitatea de a se observa degradările cuticulei în profunzime.

Dezvoltarea extraordinară a aparatului reproducător se va observa pe secțiuni efectuate prin proglote de *Taenia*.

A nu se atribui hermafroditismul vieții parazitare !

La formele libere de platelminți (planarii) se indentifică similar existența hermafroditismului, acest caracter fiind legat de planul de organizare individual specific încrengăturii, ilustrînd un anumit stadiu de evoluție.

2.4.6. Tipuri de picioare la insecte

Materiale necesare : exemplare de *Blatta orientalis*, *Carabus*, *Tettigonia viridissima*, *Gryllotalpa gryllotalpa*, *Gyrinus*, *Dytiscus*, *Apis mellifica*, furnici, pensă, ace spatulate, lupă 5x, microscop, lame, lamele, creion, hîrtie.

Scanned with OKEN Scanner

Mod de lucru. În directă legătură cu modul de viaţă diversificat, la insecte se pot întîlni tipuri diferite de picioare. În multe cazuri funcţiei locomotorii îi sînt cumulate şi alte roluri legate, mai ales, de captarea şi transportul hranei.

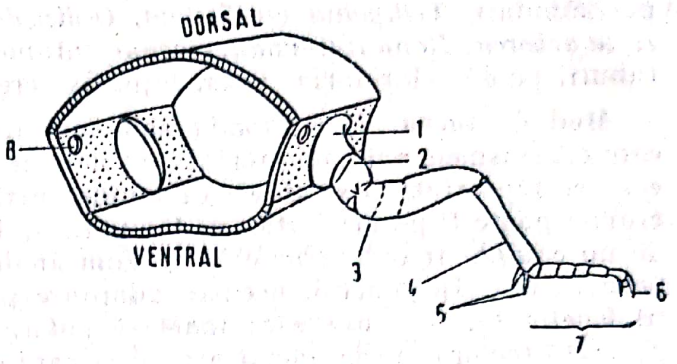


Figura 60 Schema constituţiei unui picior la insecte şi articulaţia la segmentul teoretic :
1 — subcoxă ; *2* — coxă ; *3* — trohanter ; *4* — femur ; *5* — pinteni ; *6* — ghiare ; *7* — tars ; *8* — stigmă.

Se vor realiza preparate simple pentru insectele citate. Analiza lor la lupă şi microscop (cu putere slabă de mărire) va trebui să evidenţieze rolul diferitelor articole ale piciorului. La insecte se descriu următoarele părţi componente ale piciorului : coxa, trohanter, femur, tibia, tarsul (cu mai multe articole) (fig. 60). Piciorul se inseră lateral la segmentul toracic prin subcoxă care împreună cu coxa formează o articulaţie mobilă. Aceste părţi ale piciorului prezintă anumite dimensiuni în raport cu celelalte, ca şi formaţiuni specifice în funcţie de tipul adaptării.

— Adaptarea picioarelor la mers şi fugă se poate identifica la *Blatta orientalis* sau *Carabus*. Toate articolele sînt dezvoltate, relativ alungite.

— Adaptarea picioarelor pentru sărit, întîlnită la multe ortoptere (ca de exemplu, la *Tettigonia*) este caracterizată prin alungirea femurului şi tibiei ultimei perechi de picioare. Femurul este îngroşat, reflectînd existenţa unei musculaturi puternice.

— Adaptarea picioarelor la înot, întîlnită la coleopterele acvatice (*Gyrinus*, *Dytiscus*), se prezintă printr-o scurtare a articolelor şi o mărire a suprafeţei acestora la perechea de picioare medie şi posterioară. S-au dezvoltat peri lungi pe tars.

— Adaptarea picioarelor la săpat se observă la *Gryllotalpa gryllotalpa*. Articolele sînt scurte, puternice. La perechea anterioară de picioare, femurul şi tibia sînt lăţite, marginea externă tibială, fiind prevăzută cu dinţişori. Tarsul este de asemeni scurt şi lat.

— Adaptarea picioarelor la curăţat, întîlnită frecvent la insecte, este necesară pentru menţinerea curată a antenelor, formaţiuni specializate senzorial. Multe himenoptere, pot fi observate cum stau aşezate pe ultimele două perechi de picioare, cu prima curăţindu-şi antenele, datorită unei scobitori în primul articol tarsal. Se analizează picioarele anterioare la furnici sau albină.

— Adaptarea picioarelor pentru colectat polen este o specializare a ultimei perechi de picioare la albine şi bondari. A fost descrisă anterior.

2.4.7 Observaţii asupra homocromiei

Materiale necesare : larve de *Hyphantria cunea* (omida păroasă a dudului), *Hyponomeuta sp.* (moliile frunzelor de măr şi prun), *Sitotroga cerealella* (molia cenuşie a cerealelor), adulţi de *Tanymecus dilaticollis* (răţişoara

Scanned with OKEN Scanner

porumbului), *Tettigonia viridissima*, *Oedipoda coerulescens Locusta migratoria*, *Hyla arborea*, *Rana ridibunda*, ciorpac entomologic, borcane (50, 250 și 500 ml), tuburi, pensă, cloroform, vată, lupă 5x, creion, hîrtie, carnet de teren.

Mod de lucru. *Homocromia* sau coloraţia criptică este adaptarea prin care organismele animale prezintă o coloraţie similară mediului în care trăiesc, ceea ce reprezintă o strategie de evitare a răpitorilor, (planşa VIII). Homocromia poate fi permanentă sau temporară. Eficacitatea adaptării este legată de un compartiment caracteristic. Vom analiza cîteva cazuri de homocromie permanentă. În general, această adaptare poate fi depistată la majoritatea fitafagelor la, care nu se semnalează culori vii, contrastante cu mediul lor de viaţă (coloraţie de avertizare) şi la care coloraţia este aceeaşi, chiar dacă animalul a fost aşezat pe un fond diferit sensibil de mediul său de viaţă (homocromie temporară). S-au indicat, pentru orientare, cîteva insecte şi batracieni, dar se pot lua în consideraţie şi alte specii.

Recomandăm ca iniţial să se stabilească un cod al culorilor. De exemplu, se poate folosi codul de pe cutiile de creioane colorate cu 24 nuanţe. În acest caz se va extrage fîşia cu nuanţele şi simbolurile lor. Pe teren se va depista o specie comună cu homocromie permanentă, cel mai indicat fiind un dăunător. Se va colecta individual fiecare exemplar, sau, dacă sînt mai mulţi grupaţi, se va folosi cu ciorpacul entomologic. Fiecare individ sau grup rezultat dintr-o probă va fi depozitat separat. În tubul respectiv se introduce un dop de vată cu cloroform pentru omorîrea exemplarelor. Se va introduce şi o etichetă cu numărul probei şi data.

Atenţie ! Nu introduceţi insectele în alcool pentru că se degradează culoarea.

În carnetul de teren se vor nota : locul de colectare, data, descrierea biotopului, planta de cultură sau asociaţia de plante spontane şi, ceea ce este mai important, culoarea mediului. Ea se identifică prin scara de culori şi se notează numărul (codul) în carnet. Este indicat a se efectua colectări pentru nuanţe diferite. Se poate planifica un itinerar prin cultura (sau asociaţia respectivă) după un anumit traseu cu opriri, fie la intervale regulate, fie după un număr întîmplător de paşi. Pentru acest din urmă caz se vor folosi tabelul randamic de 10 000 de numere prezent în anexa I. Rezultatul investigaţiei va consta din două şiruri de valori : cele privind coloraţia mediului şi cele privind coloraţia indivizilor. Cel de-al doilea şir de valori se obţine prin analiza exemplarelor colectate în laborator, la lupă, şi stabilirea, pentru fiecare, pe baza scării culorilor, a numărului de cod în care se încadrează.

Cele două şiruri de valori se tratează ca orice lot ; se calculează media, varianţa, coeficientul de variaţie etc. Se pot realiza apoi următoarele modalităţi de analiză cantitativă :

— se compară media coloristică a mediului şi exemplarelor printr-un test potrivit (t sau d — în funcţie de tipul distribuţiei valorilor) ;

— se calculează coeficientul de corelaţie între fiecare cuplu de valori, reprezentînd culoarea individului şi cea a mediului din care a fost colectat.

Operaţia se va realiza pe o singură specie sau mai multe, întîlnite în acelaşi loc, care se vor colecta împreună.

Pentru amfibieni, evident, nu se va lucra în acelaşi fel, cu loturi, ci doar cu cîte un individ. Este bine chiar ca exemplarul prins, după observaţie, să fie repus în mediul său. La *Hyla arborea*, ca şi la speciile de *Rana*, se vor recunoaşte atît adaptarea de homocromie criptică, cît şi cea de coloraţie de dezagregare.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL

a zece mii de numere asortate randomizat (după G. W. Snedecor., 1968)

	00–04	05–09	10–14	15–19	20–24	25–29	30–34	35–39	40–44	45–49
00	54463	22662	65905	70639	79365	67382	29085	69831	47058	08186
01	15389	85205	18850	39226	42249	90669	96325	23248	60933	26927
02	85941	40756	82414	02015	13858	78030	16269	65978	01385	15345
03	61149	69440	11286	88218	58925	03638	52862	62733	33451	77455
04	05219	81619	10651	67079	92511	59888	84502	72095	83463	75577
05	41417	98326	87719	92294	46614	50948	64886	20002	97365	30976
06	28357	94070	20652	35774	16249	75019	21145	05217	47286	76305
07	17783	00015	10806	83091	91530	36466	39981	62481	49177	75779
08	40950	84820	29881	85966	62800	70326	84740	62660	77379	90279
09	82995	64157	66164	41180	10089	41757	78258	96488	88629	37231
10	96754	17676	55659	44105	47361	34833	86679	23930	53249	27083
11	34357	88040	53364	71726	45690	66334	60332	22554	90600	71113
12	06318	37403	49927	57715	50423	67372	63116	48888	21505	80182
13	62111	52820	07243	79931	89292	84767	85693	73947	22278	11551
14	47534	09243	67879	00544	23410	12740	02540	54440	32949	13491
15	98614	75993	84460	62846	59844	14922	48730	73443	48167	34770
16	24856	03648	44898	09351	98795	18644	39765	71058	90368	44104
17	96887	12479	80621	66223	86085	78285	02432	53342	42846	94771
18	90801	21472	42815	77408	37390	76766	52615	32141	30268	18106
19	55165	77312	83666	36028	28420	70219	81369	41943	47366	41067
20	75884	12952	84318	95108	72305	64620	91318	89872	45375	85436
21	16777	37116	58550	42958	21460	43910	01175	87894	81378	10620
22	46230	43877	80207	88877	89380	32992	91380	03164	98656	59337
23	42902	66892	46134	01432	94710	23474	20423	60137	60609	13119
24	81007	00333	39693	28039	10154	95425	39220	19774	31782	49037
25	68089	01122	51111	72373	06902	74373	96199	97017	41273	21546
26	20411	67081	89950	16944	93054	87687	96693	87236	77054	33848
27	58212	13160	06468	15718	82627	76999	05999	58680	96739	63700
28	70577	42866	24969	61210	76046	67699	42054	12696	93758	03283
29	94522	74358	71659	62038	79643	79169	44741	05437	39038	13163
30	42626	86819	85651	88678	17401	03252	99547	32404	17918	62880
31	16051	33763	57194	16752	54450	19031	58580	47629	54132	60631
32	08244	27647	33851	44705	94211	46716	11738	55784	95374	72655
33	59497	04392	09419	89964	51211	04894	72882	17805	21896	83864
34	97155	13428	40293	09985	58434	01412	69124	82171	59058	82859
35	98409	66162	95763	47420	20792	61527	20441	39435	11859	41567
36	45476	84882	65109	96597	25930	66790	65706	61203	53634	22557
37	89300	69700	50741	30329	11658	23166	05400	66669	48708	03887
38	50051	95137	91631	66315	91428	12275	24816	68091	71710	33258
39	31753	85178	31310	89642	98364	02306	24617	09609	83942	22716

Scanned with OKEN Scanner

	00—04	05—09	10—14	15—19	20—24	25—29	30—34	35—39	40—44	45—49
40	79152	53829	77250	20190	56535	18760	69942	77448	33278	48805
41	44560	38750	83635	56540	64900	42912	13953	79149	18710	68618
42	68328	83378	63369	71381	39564	05615	42451	64559	97511	65747
43	46939	38689	58625	08342	30459	85863	20781	09284	26333	91777
44	83544	86141	15707	96256	23068	13782	03467	89469	93842	55349
45	59391	58030	52098	82718	87024	82848	04190	96574	90464	29065
46	99567	76364	77204	04615	27062	96621	43918	01896	83991	51141
47	10363	97518	51400	25670	98342	61891	27101	37855	06235	33316
48	86859	19558	16706	64432	99612	59798	32803	67708	15297	28612
49	11258	24591	36863	55368	31721	94335	34936	02566	80972	01188
50	95068	88628	35911	14530	33020	80428	39936	31855	34334	64865
51	54463	47237	73800	91017	36239	71824	83671	39892	60518	37092
52	16874	62677	57412	13215	31389	62233	80827	73917	82802	84420
53	92494	63157	74593	91316	03505	72389	96363	52887	01087	66091
54	15669	56689	35682	40844	53256	81872	35213	09840	34471	74441
55	99116	75486	84989	23476	52967	67104	39495	39100	17217	74073
56	15696	10703	65178	90637	63110	17622	53988	71087	84148	11670
57	97720	15369	21269	69620	03388	13699	33423	67453	43269	56720
58	11666	13841	71681	98000	35979	39719	81899	07449	47985	46967
59	71628	72130	78783	75691	41632	09847	61547	18707	85489	69944
60	40501	51089	99943	91843	41995	88931	73631	69361	05375	15417
61	22518	55576	98215	82068	10798	86211	36584	67466	69373	40054
62	75112	30485	62173	02132	14878	92879	22281	16783	86352	00077
63	80327	02671	98191	84342	90813	49268	95441	15496	20168	09271
64	60251	45548	02146	05597	48228	81366	34598	72856	66762	17002
65	57430	82270	10421	05540	43648	75888	66049	21511	47676	33444
66	73528	39559	34434	88596	54086	71693	43132	14414	79949	85193
67	25991	65959	70769	64721	86413	33475	42740	06175	82758	66248
68	78388	16638	09134	59880	63806	48472	39318	35434	24057	74739
69	12477	09965	96657	57994	59439	76330	24596	77515	09577	91871
70	83266	32883	42451	15579	38155	29793	40914	65990	16255	17777
71	76970	80876	10237	39515	79152	74798	39357	09054	73579	92359
72	37074	65198	44785	68624	98336	84481	97610	78735	46703	98265
73	83712	06514	30101	78295	54656	85417	43189	60048	72781	72606
74	20287	56862	69727	94443	64936	08366	27227	05158	50326	59566
75	74621	32592	86538	27041	65172	85532	07571	80609	39285	65340
76	64081	49863	08478	96001	18888	14810	70545	89755	59064	07210
77	05617	75818	47750	67814	29575	10526	66192	44464	27058	40467
78	26793	74951	65466	74307	13330	42664	85515	20632	05497	33625
79	65988	72850	48737	54719	52056	01596	03845	35067	03134	70322
80	27366	42271	44300	73399	21205	03280	73457	43093	05192	48676
81	56760	10909	98147	34736	33863	95256	12731	66598	50771	83665
82	72880	43338	93643	58904	59543	23943	11231	83268	65938	81581
83	77888	38100	03062	58103	47961	83841	25878	23746	55903	44115
84	28440	07819	21580	51459	47971	29882	13990	29226	23608	15873
85	63525	94441	77033	12147	51054	49955	58312	76923	96071	05813
86	47606	93410	16359	89033	89696	47231	64498	31776	05383	39902
87	52669	45030	96279	14709	52372	87832	02735	50803	72744	88208
88	16738	60159	07425	62369	07515	82721	37875	71135	21315	00132
89	59348	11695	45751	15865	74739	05572	32688	20271	65128	14551

Scanned with OKEN Scanner

	00—04	05—09	10—14	15—19	20—24	25—29	30—34	35—39	40—44	45—49
90	91621	00881	04900	54224	46177	55309	17852	27491	89415	23466
91	91896	67126	04151	03795	59077	11848	12630	98375	52068	60142
92	55751	62515	21108	80830	02263	29303	37204	96926	30506	09808
93	85156	87689	95493	88842	02264	55017	55539	17771	69448	87530
94	07521	56898	12236	60277	39102	62315	12239	07105	11844	01117
95	64249	63664	39652	40646	97306	31741	07294	84149	46777	82487
96	26538	44249	04050	48174	65570	44072	40192	51153	11397	58212
97	05845	00512	78630	55328	18116	69296	91705	86224	29503	57071
98	74897	68373	67359	51014	35510	83048	17056	72506	82949	54600
99	20872	54570	35017	88132	25730	22626	86723	91691	13191	77212
100	31432	96156	89177	75541	81355	24480	77243	76690	42507	84362
101	66890	61505	01240	00660	05873	13568	76082	79172	57913	93448
102	48194	57790	79970	33106	86904	48119	52503	24130	72824	21627
103	11303	87118	81471	52936	08555	28420	49416	44448	04269	27029
104	54374	57325	16947	45356	78371	10563	97191	53798	12693	27928
105	64852	34421	61046	90849	13966	39810	42699	21753	76192	10508
106	16309	20384	09491	91588	97720	89846	30376	76970	23063	35894
107	42587	37065	24526	72602	57589	98131	37292	05967	26002	51945
108	40177	98590	97161	41682	84533	67588	62036	49967	01990	72308
109	82309	76128	93965	26743	24141	04838	40254	26065	07938	76236
110	79788	68243	59732	04257	27084	14743	17520	95401	55811	76099
111	40538	79000	89559	25026	42274	23489	34502	75508	06059	86682
112	64016	73598	18609	73150	62463	33102	45205	87440	96767	67042
113	49767	12691	17903	93871	99721	79109	09425	26904	07419	76013
114	76974	55108	29795	08404	82684	00497	51126	79935	57450	55671
115	23854	08480	85983	96025	50117	64610	99425	62291	86943	21541
116	68973	70551	25089	78033	98573	79848	31778	29555	61446	23037
117	36444	93600	65350	14971	25325	00427	52073	64280	18847	24768
118	03003	87800	07391	11594	21196	00781	32550	57158	58887	73041
119	17540	26188	36647	78386	04558	61463	57842	90382	77019	24210
120	38916	55809	47982	41968	69760	79422	80154	91486	19180	15100
121	64288	19843	69122	42502	48508	28820	59933	72998	99942	10515
122	86809	51564	38040	39418	49915	19000	58050	16899	79952	57849
123	99800	99566	14742	05028	30033	94889	53381	23656	75787	59223
124	92345	31890	95712	08279	91794	94068	49337	88674	35355	12267
125	90363	65162	32245	82279	79246	80834	06088	99462	56705	06118
126	64437	32242	48431	04835	39070	59702	31508	60935	22390	52246
127	91714	53662	28373	34333	55791	74751	51144	18827	10704	76803
128	20902	17646	31391	31459	33315	03444	55743	74701	58851	27427
129	12217	86007	70371	52281	14510	76094	96579	54853	79339	20839
130	45177	02863	42307	53571	22532	74921	17735	42201	80540	54721
131	28325	90814	08804	52746	47913	54577	47525	77705	95330	21866
132	29019	28776	56116	54791	64604	08815	46049	71186	34650	14994
133	84979	81353	56219	67062	26146	82567	33122	14124	46240	92973
134	50371	26347	48513	63915	11158	25563	91915	18431	92978	11591

Scanned with OKEN Scanner

	00—04	05—09	10—14	15—19	20—24	25—29	30—34	35—39	40—44	45—49
135	12900	71775	29845	60774	94924	21810	38636	33717	67598	82521
136	75086	23537	49933	33595	13484	97588	28617	17979	70749	35234
137	99495	51434	20181	09993	38190	42553	68922	52125	91077	40197
138	26075	31671	45386	36583	93459	48599	52022	41330	60651	91321
139	13636	93596	23377	51133	95120	61496	42474	45141	46660	42338
140	32847	31282	03345	89593	69214	70381	78285	20054	91018	16742
141	16916	00041	30236	55023	14253	76582	12092	86533	93426	37655
142	66176	34047	21005	27137	03191	48970	64625	22394	39622	79085
143	46299	13335	12180	16861	38043	59292	62675	63631	37020	78195
144	22847	47839	45385	23289	47526	54098	45683	55849	51575	64689
145	41851	54160	92320	69936	34803	92479	33399	71160	64777	83378
146	28444	59497	91586	95917	68553	28639	06455	35174	11130	91994
147	47520	62378	98855	83174	13088	16561	68559	26679	06238	51254
148	34978	63271	13142	82681	05271	08822	06490	44984	49307	62717
149	37404	80416	69035	92980	49486	74378	75610	74976	70056	15478
150	32400	65482	52099	53676	74648	94148	65095	69597	52771	71551
151	89262	86332	51718	70663	11623	29834	79820	73002	84886	03591
152	86862	09127	98021	03871	27789	58444	44832	36505	40672	30180
153	90814	14833	08759	74645	05046	94056	99094	65091	32663	73040
154	19192	82756	20553	58446	55376	88914	75096	26119	83898	43816
155	77585	52593	56612	95766	10019	29531	74034	20953	53523	58136
156	23757	16364	05096	63192	62386	45389	85332	18877	55710	96459
157	45989	96257	23850	26216	23309	21526	07425	50254	19455	29315
158	92970	94243	07316	41467	64837	52406	25225	51553	31220	14032
159	74346	59596	40088	98176	17896	86900	20249	77753	19099	48885
160	87646	41309	27636	45153	29988	94770	07255	70908	05340	99751
161	50099	71038	45146	06146	55211	99429	43169	66259	97786	59180
162	10127	46900	64984	75348	04115	33624	68774	60013	35515	62556
163	67995	81977	18984	64091	02785	27762	42529	97144	80407	64524
164	26304	80217	84934	82657	69291	35397	98714	35104	08187	48109
165	81994	41070	56642	64091	31229	02595	13513	45148	78722	30144
166	59537	34662	79631	89403	65212	09975	06118	86197	58208	16162
167	51228	10937	62396	81460	47331	91403	95007	06047	16846	64809
168	31089	37995	29577	07828	42272	54016	21950	86192	99046	84864
169	38207	97938	93459	75174	79460	55436	57206	87644	21296	43395
170	88666	31142	09474	89712	63153	62333	42212	06140	42594	43671
171	53365	56134	67582	92557	89520	33452	05134	70628	27612	33738
172	89807	74530	38004	90102	11693	90257	05500	79920	62700	43325
173	18682	81038	85662	90915	91631	22223	91588	80774	07176	12548
174	63571	32579	63942	25371	09234	94592	98475	76884	37635	33608
175	68927	56492	67799	95398	77642	54913	91853	08424	81460	76229
176	56401	63186	39389	88798	31356	89235	97036	32341	33292	73757
177	24333	95603	02359	72942	46287	95382	08452	62862	97869	71775
178	17025	84202	95199	62272	06366	16175	97577	99304	41587	03686
179	02804	08253	52133	20224	68034	50865	57868	22343	55111	03607

Scanned with OKEN Scanner

	00—04	05—09	10—14	15—19	20—24	25—20	30—34	35—30	40—44	45—49
180	53422	06825	69711	07950	64716	18003	49581	45378	99878	61130
181	67453	35671	89316	41620	32048	70225	47597	33137	31443	51445
182	07294	85353	74819	23445	68237	07202	99515	62282	53809	26685
183	79544	00302	45338	16015	66613	88968	14595	63836	77716	79596
184	64141	85442	82060	46471	24162	39500	87351	36637	42833	71875
185	90919	11883	58318	00042	52402	28210	34075	33272	00840	73268
186	06670	57353	86275	92276	77591	46924	60839	55437	03183	13191
187	36634	93976	52062	83678	41256	60948	18685	48992	19462	96062
188	75101	72891	85745	67106	26010	62107	60885	37503	55461	71213
189	05112	71222	72654	51583	05228	62056	57390	42746	39272	96659
190	08298	03879	20995	19850	73090	13191	18963	82244	78479	90121
191	59883	01785	82403	96062	03785	03488	12970	64896	38336	30030
192	46982	06682	62864	91837	74021	89094	39952	64158	79614	78235
193	31121	47266	07661	02051	67599	24471	69843	83696	71402	76287
194	97867	56641	63416	17577	30161	87320	37752	73276	48969	41915
195	57364	86746	08415	14621	49430	22311	15836	72492	49372	44103
196	09559	26263	69511	28064	75999	44540	13337	10918	79846	54809
197	53873	55571	00608	42661	91332	63956	74087	59008	47493	99581
198	35531	19162	86406	05299	77511	24311	57257	22826	77555	05941
199	28229	88629	25695	94932	30721	16197	78742	34974	97528	45447

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

Alexander G. — *General Biology*, Thomas Y. Crowell Comp., New York, 1962.

Andrei M., Anghel I., Popescu I., Stoica E. — *Lucrări practice de botanică*, E.D.P., Bucureşti, 1975.

Bănărescu P. — *Principiile şi metodele zoologiei sistematice*, Ed. Academiei, Bucureşti, 1973.

Botnariuc N. — *Principii de biologie generală*, Ed. Academiei, Bucureşti, 1967.

Botnariuc N. — *Biologie generală*, E.D.P., Bucureşti, 1974.

Ceapoiu N. — *Metode statistice aplicate în experienţele agricole şi biologice*, Ed. Agrosilvică, Bucureşti, 1968.

Ceapoiu N. — *Genetica şi evoluţia populaţiilor biologice*, Ed. Academiei, Bucureşti, 1976.

Chiriac E., Udrescu M. — *Ghidul naturalistului în lumea apelor dulci*, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1965.

Chiriţă C. — *Ecopedologie cu baze de pedologie generală*, Editura „Ceres", 1974.

Codreanu R. — *Grands problèmes controversès de l'évolution phylogènètique des Mètazoaires*, Ann. Biol. 1970, tom. 9, no. 11—12, pg. 671—709.

Cupcea Em., Iliescu Em., Boldor O., Brugovitzky E., Petrea V., Popovici N., Soare Fl., — *Lucrări practice de fiziologia plantelor*, E.D.P., Bucureşti, 1965.

Dăbală I., Gavrilă L. — *Genetică, îndrumător de lucrări practice*, Univ. „Babeş-Bolyai" Cluj, 1971.

Dobzhansky Th. — *Genetics and the origin of species*, Columbia Univ. Press, New York and London, 1966.

Falconer D. S. — *Introducere în genetica cantitativă*, Ed. Agrosilvică, Bucureşti, 1969.

Gavrilă L. — *Cromozomii*, Editura ştiinţifică şi enciclopedică, Bucureşti, 1975.

Gavrilă L., Dăbală I. — *Genetica diviziunii celulare*, Ed. „Dacia", Cluj-Napoca, 1975.

Gause G. F. — *The struggle for existence*. Hafner Publi. Com., New York and London, 1964 (prima ediţie : Moscova 1934).

Giosan N., Săulescu N. — *Principii de genetică*, Ed. Ceres, Bucureşti 1972.

Ionescu M. A. — *Contribuţii la studierea faunei frunzarului (pătura de frunze moarte) de fag*, Bucureşti, 1932.

Ionescu M. A., Lăcătuşu M. — *Entomologie*, E.D.P., Bucureşti, 1971.

Ivan D., Doniţă N. — *Studiul ecologic şi geografic al vegetaţiei*, Universitatea din Bucureşti, Facultatea de biologie, 1975.

Lindeman R. — *The trophic-dynamic aspect of ecology*, Ecology, 1942. tom. 23, 199—418.

MacArthur R., Connell J. — *Biologia populaţiilor*, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1970.

Mayr E. — *Animal species and evolution*, Harward Univ. Press, Cambridge, 1966.

Mettler L., Gregg Th. G. — *Genetica populaţiilor şi evoluţia*, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1974.

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

CUVÎNT ÎNAINTE 3
INTRODUCERE 5

1. CARACTERISTICILE FUNDAMENTALE ALE MATERIEI VII

1.1. *Compoziția chimică a sistemelor vii (Dr. V. Soran)* 9
1.1.1. Apa din organisme 9
1.1.2. Compoziția chimică elementară a organismelor 11
1.1.3. Substanțele organice 14

1.2. *Metabolismul* (Dr. V. Soran) 18

1.2.1. Studiul fotosintezei 19
1.2.2. Studiul respirației 20

1.3. *Ereditatea* (Dr. L. Gavrilă) 21

1.3.1. Acizii nucleici — substratul chimic al eredității 21
1.3.1.1. Structura chimică și fizică a acizilor nucleici 21
1.3.1.2. Rolul acizilor nucleici în ereditate 27
1.3.2. Codul genetic 34
1.3.2.1. Caracteristicile codului genetic 35
1.3.3. Biosinteza proteică 36
1.3.3.1. Etapele biosintezei proteice 37
1.3.4. Reglarea activității genelor 38
1.3.5. Ereditatea la nivel celular 41
1.3.5.1. Evidențierea cromozomilor în mitoză la plante 42
1.3.5.2. Evidențierea cromozomilor în mitoză la animale 46
1.3.5.3. Structura și morfologia cromozomilor. Cariotipul 47
1.3.5.4. Studiul cromozomilor în meioză 50
1.3.5.5. Tipuri particulare de cromozomi 54
1.3.5.6. Tezele teoriei cromozomiale a eredității 55
1.3.5.7. Evidențierea cromatinei sexuale 58
1.3.5.8. Studiul mutațiilor 59
1.3.5.9. Studiul acțiunii unor agenți mutageni asupra materialului genetic la plante și animale 60
1.3.6. Studiul transmiterii caracterelor ereditare 62

Scanned with OKEN Scanner

1.3.7. Exerciţii de caracterizare genetică 67
1.3.8. Alte exerciţii de analiză genetică 68

1.4. *Reproducerea sistemelor individuale* (Dr. L. Gavrilă) 68

1.4.1. Reproducerea prin diviziune celulară 73
1.4.2. Regenerarea la planarii 74
1.4.3. Reproducerea asexuată 74
1.4.3.1. Reproducerea asexuată prin spori la plante 74
1.4.4. Reproducerea sexuată 74
1.4.4.1. Exerciţii şi demonstraţii practice privind alternanţa de generaţii la Spermatophyta 74
1.4.4.2. Reproducerea sexuată la animale 75

1.5. *Structura şi funcţionalitatea sistemelor ecologice, populaţional şi biocenotic* (Lector dr. M. Tufescu) 78

1.5.1. Structura ecologică a sistemului populaţional şi biocenotic 79
1.5.1.1. Piramida vîrstelor la *Drosophyla melanogaster* 79
1.5.1.2. Dinamica structurii populaţiei pe stadii de dezvóltare la *Drosophyla melanogaster* 81
1.5.1.3. Structura trofică a biocenozei 82
1.5.2. Funcţionalitatea ecologică a sistemului populaţional şi biocenotic 84
1.5.2.1. Modelarea Schwerdtfeger a reglării numerice în populaţie prin factorii abiotici independenţi de densitate 84
1.5.2.2. Creşterea logistică a populaţiei de *Saccharomyces cerevisiae* (experienţa lui Gause) 84
1.5.2.3. Evidenţierea procesului reglării numerice populaţionale prin concurenţă intraspecifică 91
1.5.2.4. Evidenţierea procesului reglării numerice prin concurenţă inter- şi intraspecifică 93
1.5.2.5. Modelarea reglării reciproce a nivelului numeric al consumatorilor primari şi secundari într-o biocenoză (modelare Wisarcot) . . 94
1.5.2.6. Studiul productivităţii primare (metoda Winkler) 99
1.5.2.7. Repere în studierea unui ecosistem silvic 104

2. EVOLUŢIONISMUL 109

2.1. *Variabilitatea* (Lector dr. M. Tufescu) 110
2.1.1. Determinarea variabilităţii nongenetice 111
2.1.2. Identificarea normei de reacţie 112
2.1.3. Determinarea variabilităţii genetice, nongenetice şi globale dintre indivizii a două specii diferite 113
2.1.4. Determinarea variabilităţii continui 114
2.1.5. Determinarea variabilităţii discontinui şi a polimorfismului 115

2.2. *Rolul factorilor evolutivi în modificarea variabilităţii* (Lector dr. M. Tufescu) . . . 119

2.1.1. Modelarea acţiunii factorilor generatori de variabilitate (Modelare Simplex M. Tufescu) 120
2.2.2. Modelarea acţiunii driftului genetic de diversificare a populaţiilor mici (modelare MoCaS, M. Tufescu) 127
2.2.3. Observarea acţiunii driftului genetic de modificare a raportului sexual în populaţii de *Drosophyla melanogaster* 130
2.2.4. Modelarea teoretică a acţiunii selecţiei sexuale de restrîngere a variabilităţii 131

Scanned with OKEN Scanner

2.2.5. Modelarea teoretică a acțiunii selecției naturale de restrîngere a variabilității (modelare RaMCoT, M. Tufescu) 134
2.2.6. Modelarea teoretică a interacțiunii selecției naturale și a factorilor generatori de variabilitate (modelare Graphoduplex, M. Tufescu) 138
2.2.7. Microevoluția diferențială a două populații 142

2.3. *Introducere în statistică și modelarea matematică a procesului evolutiv* (Lector dr. M. Tufescu) 143

2.3.1. Statistica și modalități de calcul 144
2.3.2. Modelarea matematică a acțiunii factorilor evolutivi 154

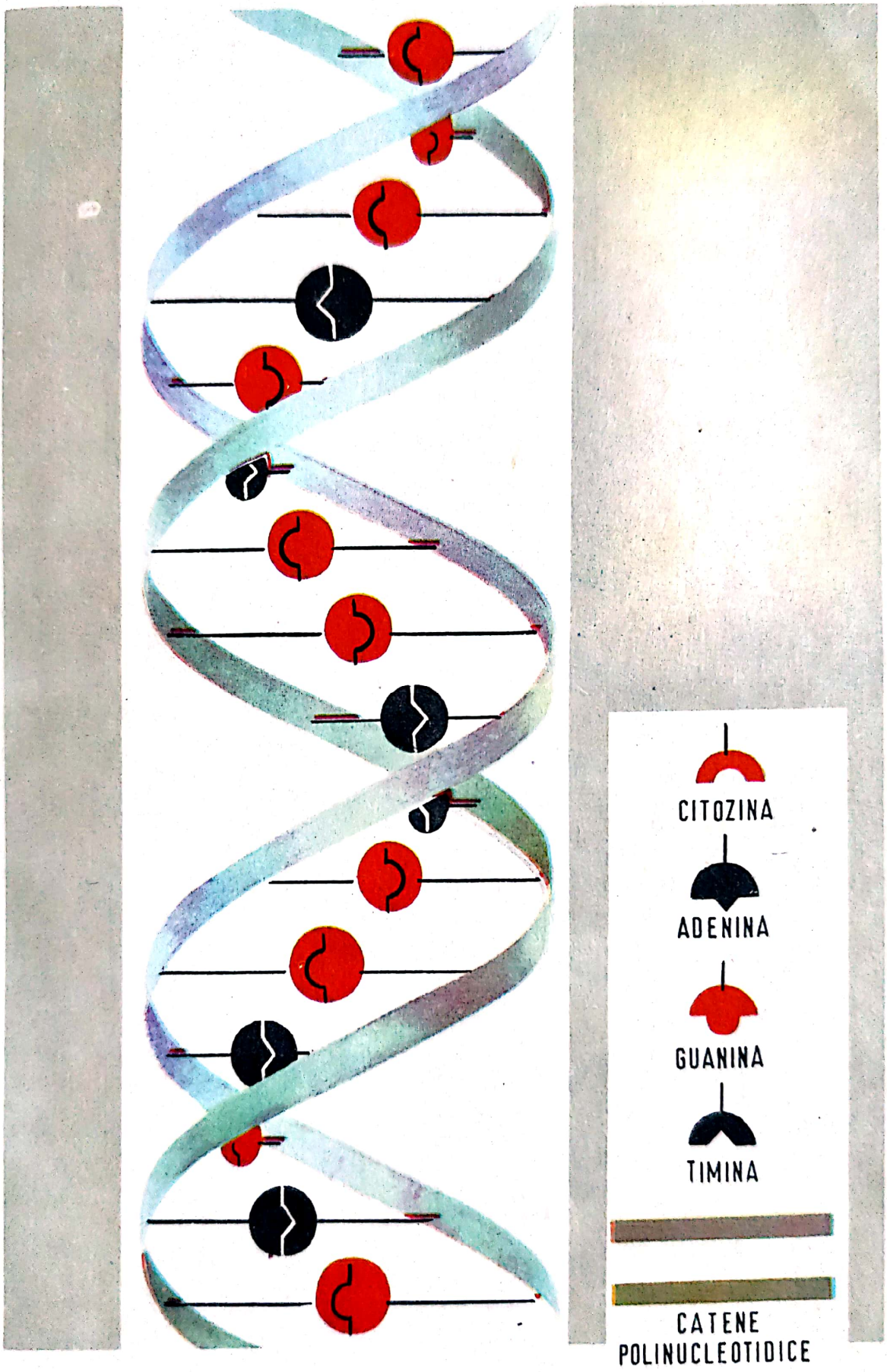
2.4. *Adaptările organismelor ca argumente în favoarea evoluționismului* (Prof. gr. I. N. Cîmpeanu) 165
2.4.1. Evidențierea principalelor caracteristici adaptative ale plantelor la acțiunea umidității 166
2.4.2. Influența luminii asupra creșterii plantelor 167
2.4.3. Observații asupra adaptărilor morfologice datorate mutualismului (simbiozei) 168
2.4.4. Adaptarea aparatului masticator la regimul de hrană prădător 170
2.4.5. Adaptări la viața parazitară 171
2.4.6. Tipuri de picioare la insecte 172
2.4.7. Observații asupra homocromiei 180

Bibliografie 180

Coli de tipar 11,500. Planșe 4.
B.T. 19.10.1977
Format 16/70×100, hîrtie scris
IA. 70×100/44,1
Tiraj 18 500+80 broșat. Apărut 1977

I. P. „Oltenia" Craiova
Str. M. Viteazul, nr. 4
Republica Socialistă România
Plan 6 300/249/1977

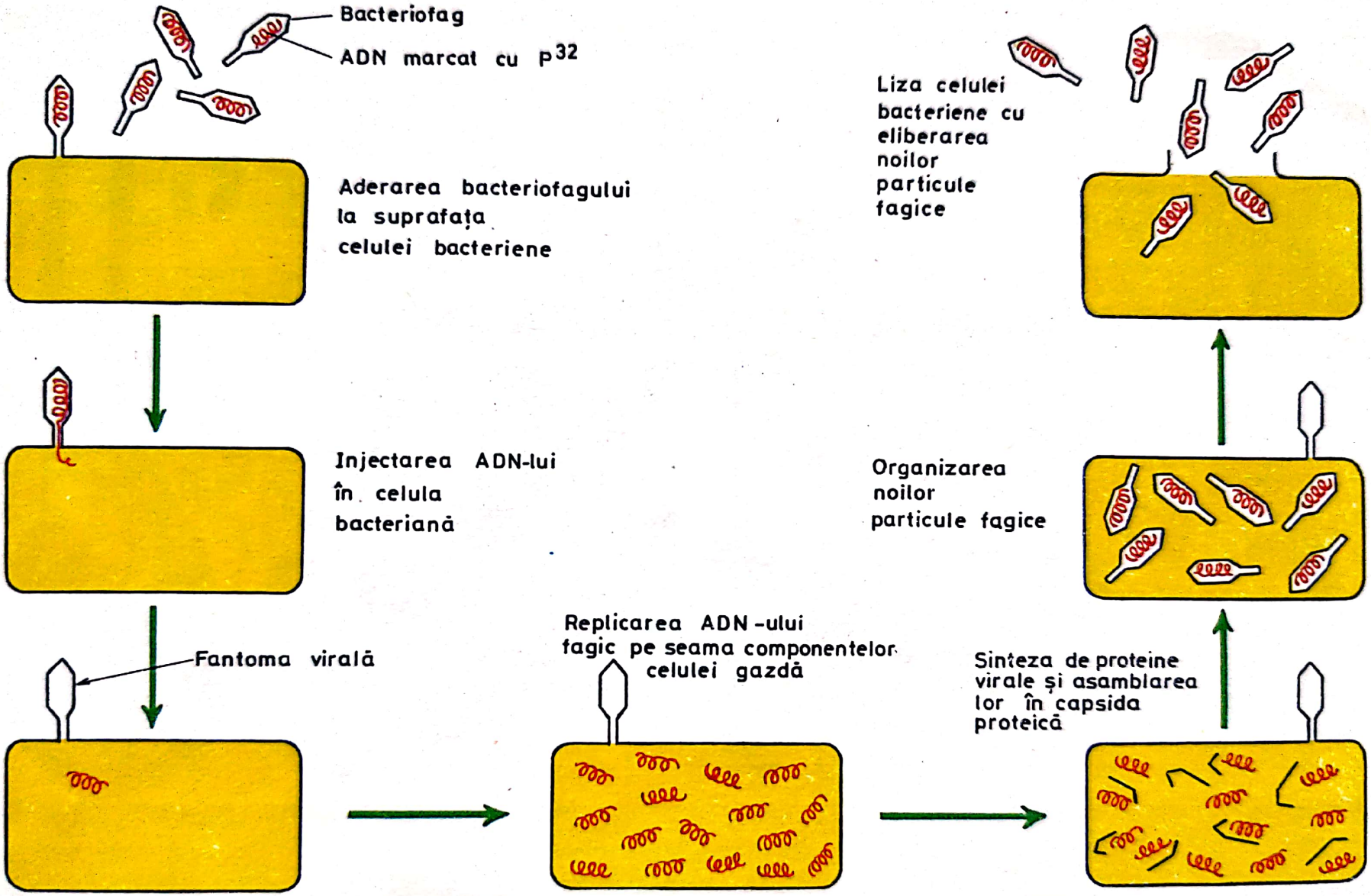
Scanned with OKEN Scanner



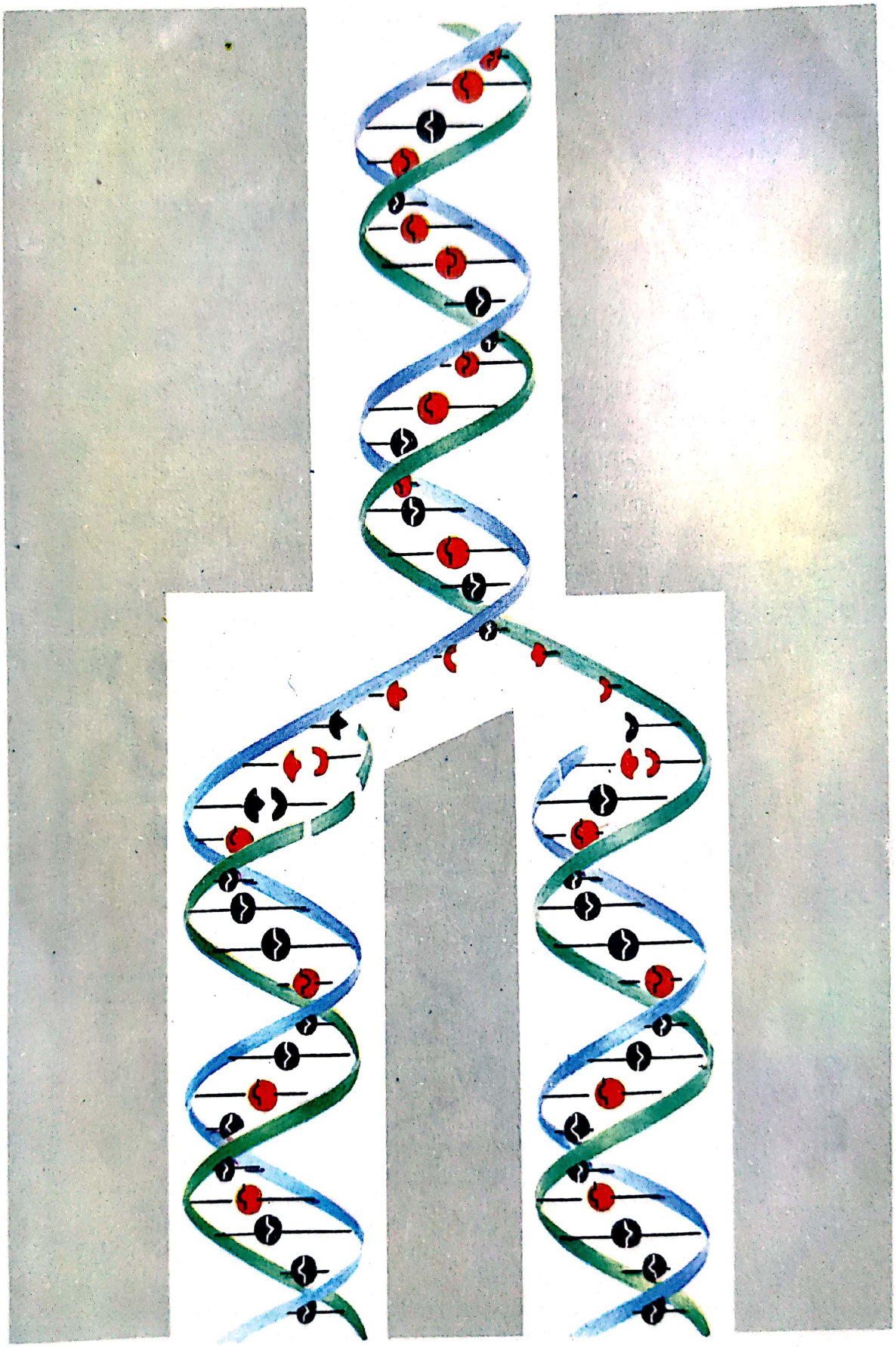
Planșa I. Modelul de structură dublu-catenară a macromoleculei de A.D.N.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner


Bacteriofag
ADN marcat cu P32
Aderarea bacteriofagului la suprafața celulei bacteriene
Injectarea ADN-lui în celula bacteriană
Fantoma virală
Replicarea ADN-ului fagic pe seama componentelor celulei gazdă
Sinteza de proteine virale și asamblarea lor în capsida proteică
Organizarea noilor particule fagice
Liza celulei bacteriene cu eliberarea noilor particule fagice

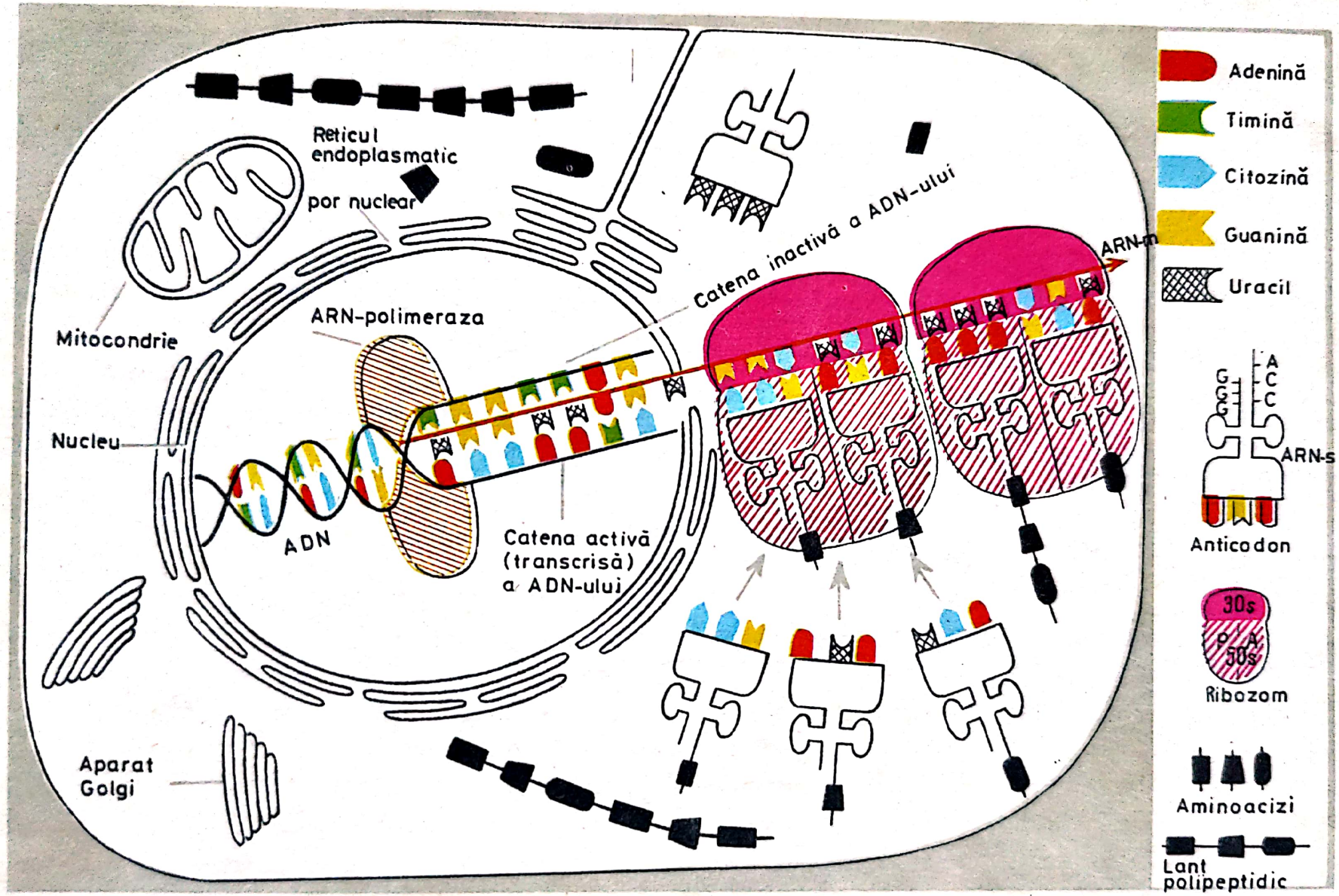
Planșa II. Ciclul litic al bacteriofagului.



Planșa III. Modelul semiconservativ de replicare a A.D.N.-ului.

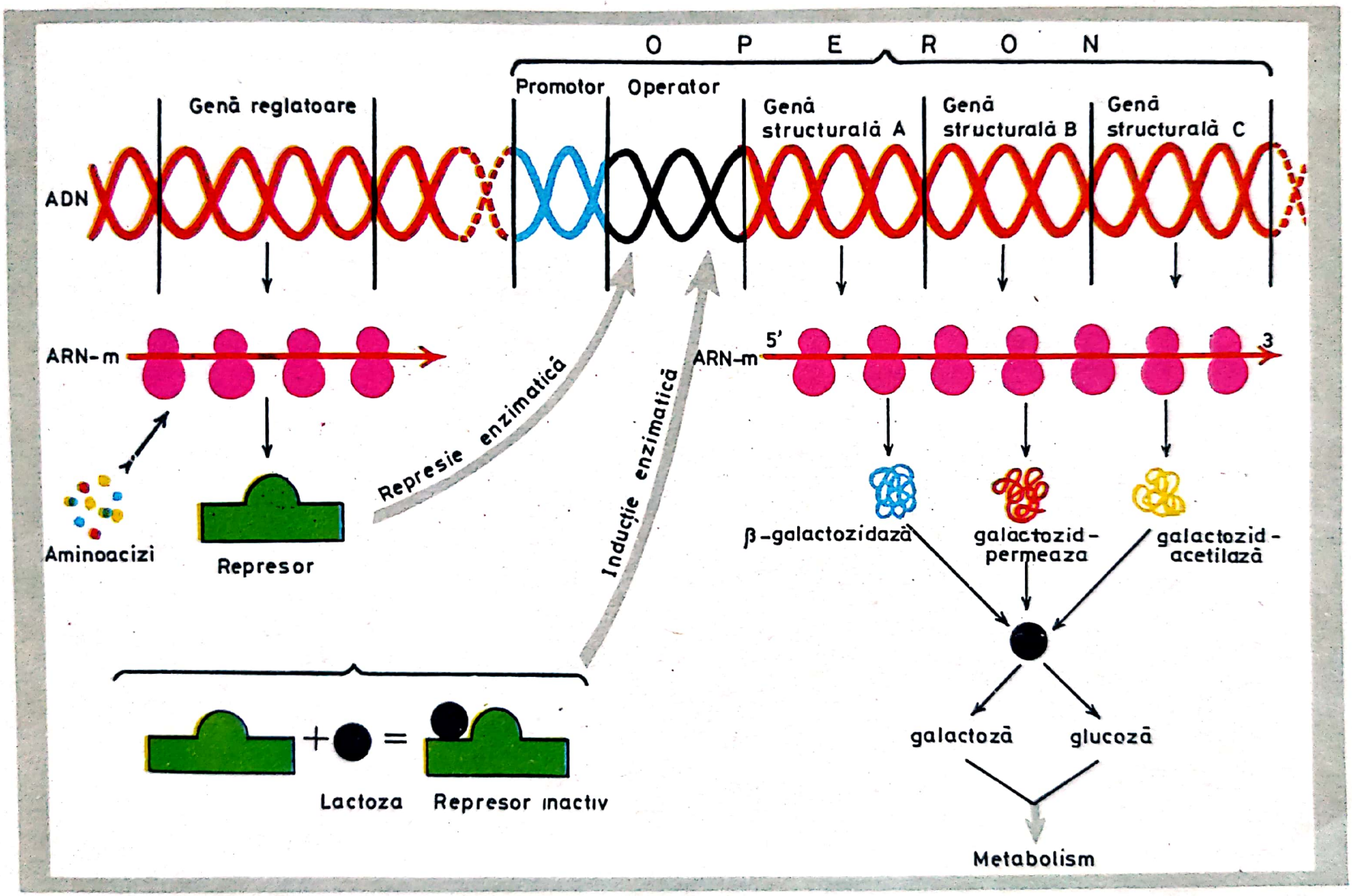
Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

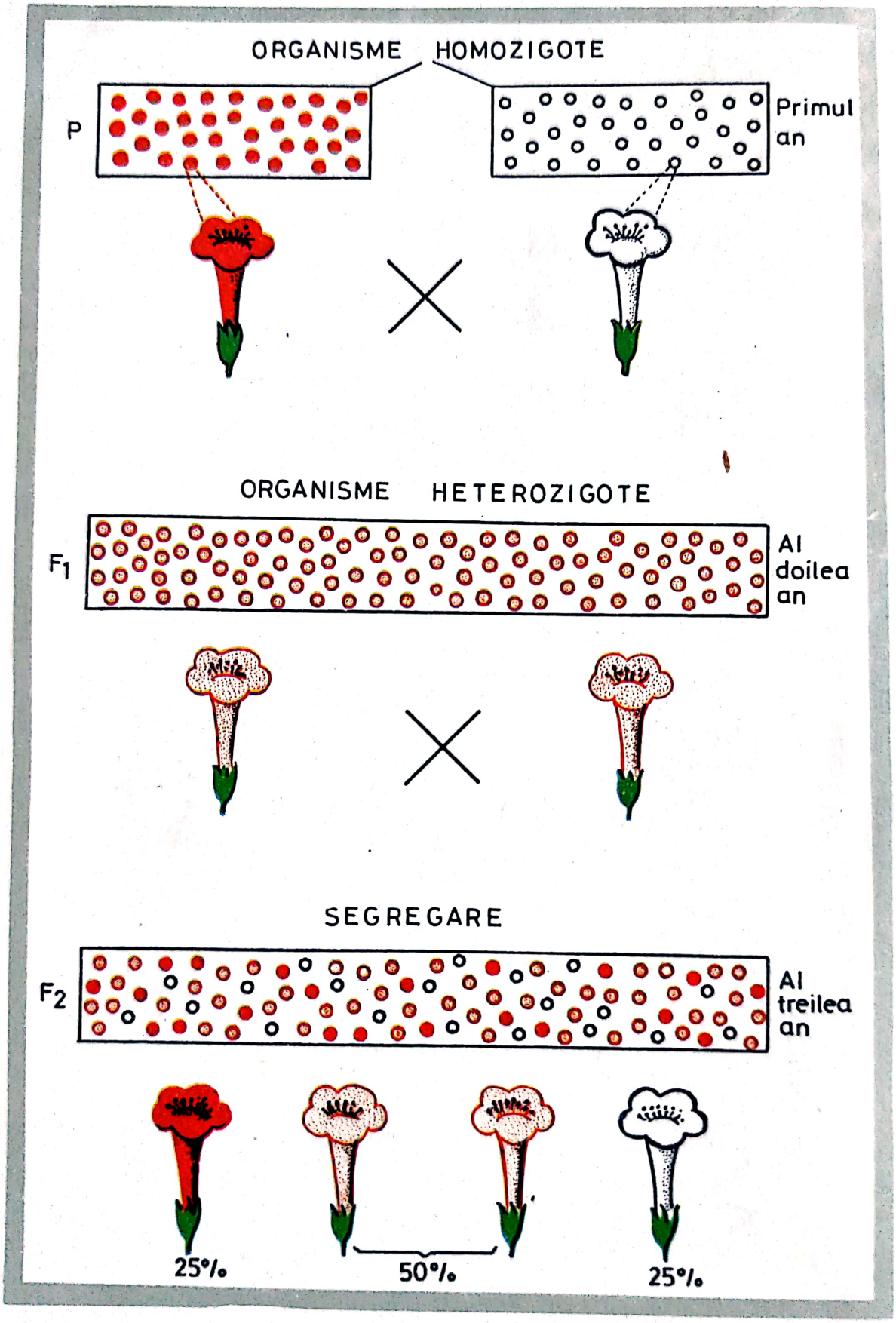


Planșa IV. Decodificarea informației genetice în procesul de sinteză proteică.

Scanned with OKEN Scanner

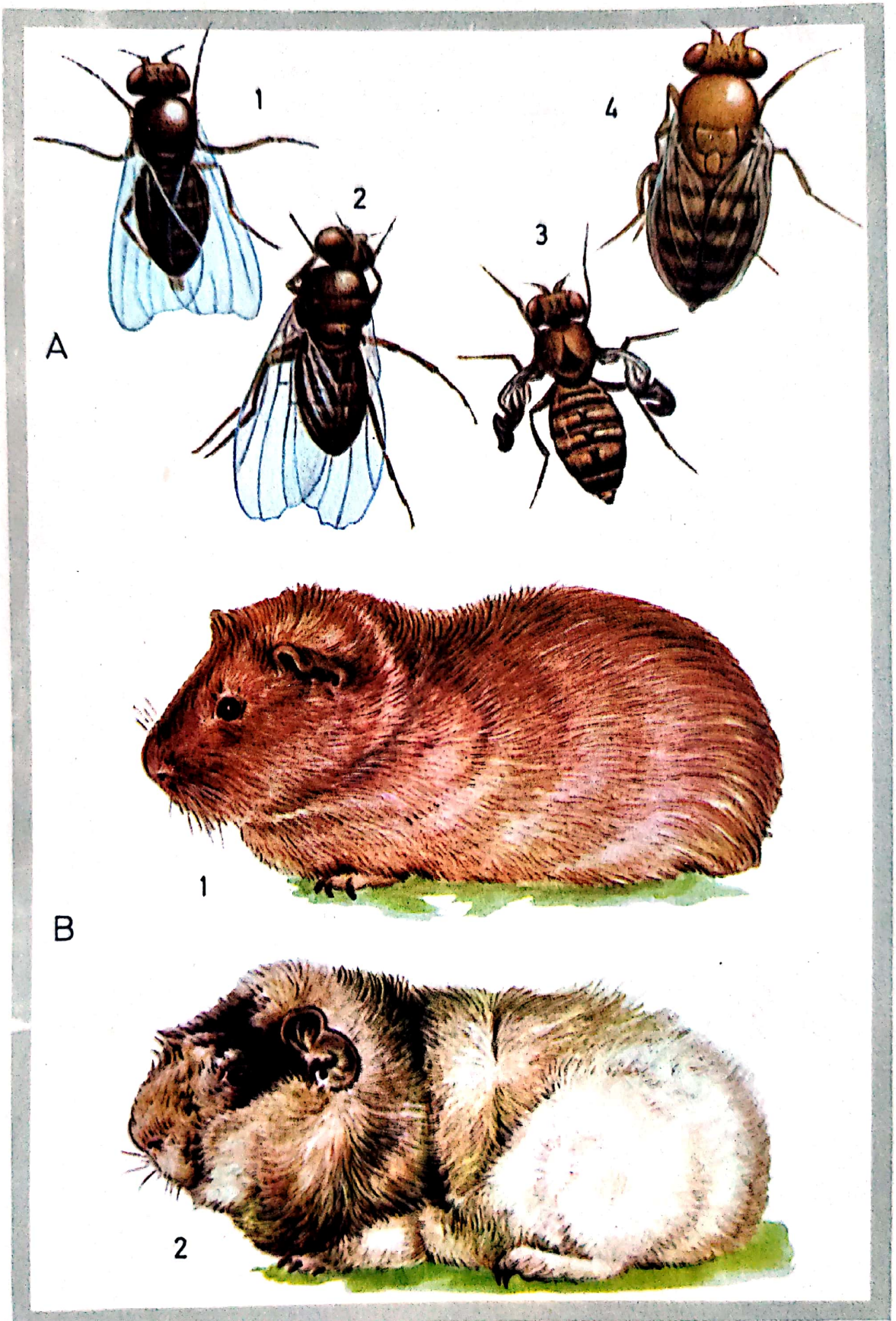


Planșa V. Reglarea activității genelor.



Planșa VI. Segregarea caracterelor în cazul semidominației la *Mirabilis jalapa*.

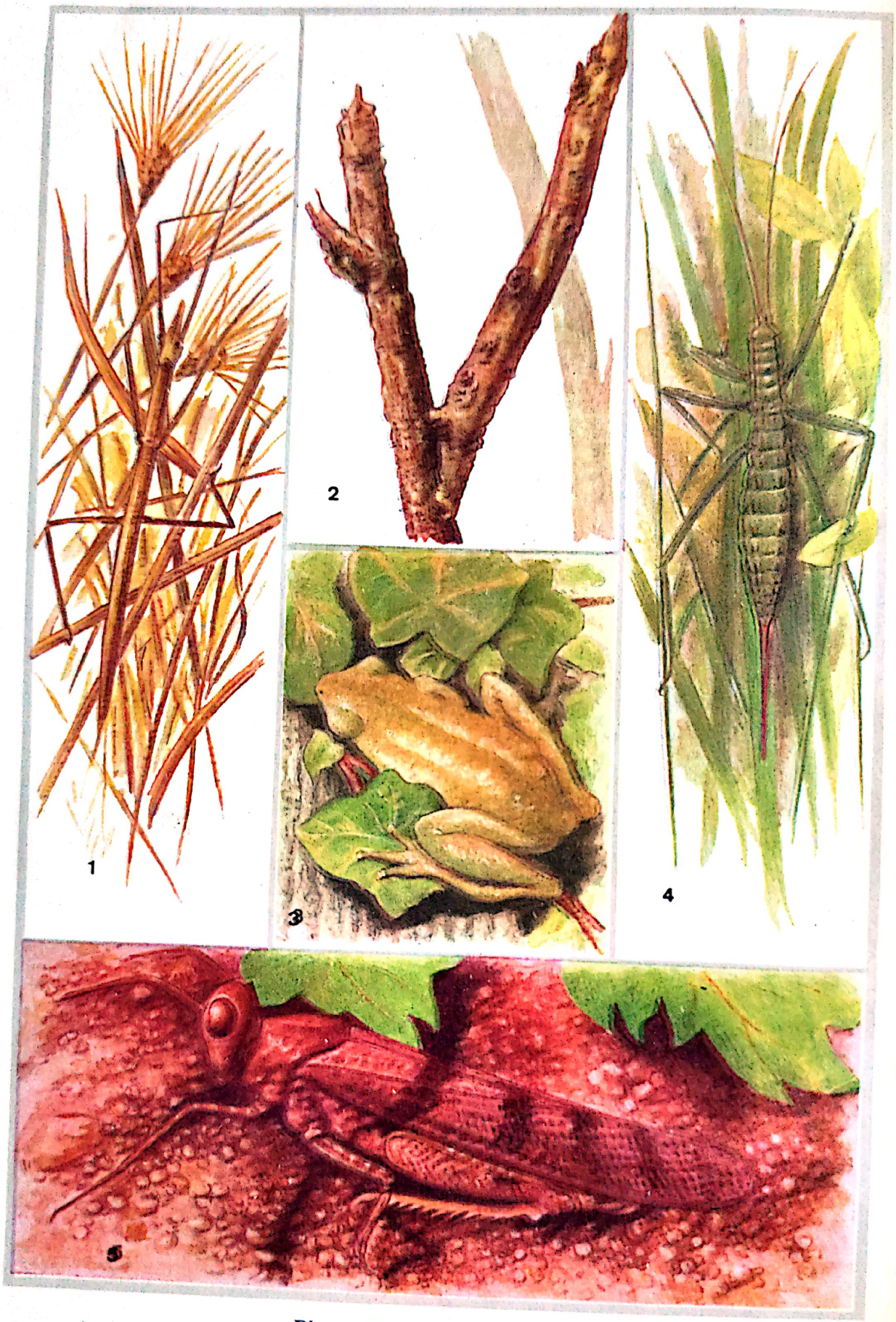
Scanned with OKEN Scanner



Planșa VII. A. **Polimorfism la** *Drosophila melanogaster* :
1 — mutanta aripi decupate ; 2 — mutanta aripi franjurate ; 3 — mutanta aripi boțite ; 4 — mutanta aripi mici.

B. **Polimorfism la cobai :**
1 — mutanta cu blana roșie ; 2 — mutanta tip abisinian (cu părul dispus în rozete pe tot corpul).

Scanned with OKEN Scanner



Planșa VIII. **Homocromie :**
1 — la *Clonopsis gallicus* (ord. *Phasmida*) ; *2* — la un cotar (fam. *Geometridae*, ord. *Lepidoptera*) ; *3* — la *Hyla arboraea* ; *4* — la *Saga pedo* (ord. *Orthoptera*) ; *5* — la *Oedipoda coerulescens* (ord. *Orthoptera*).

Scanned with OKEN Scanner

15

Lei 7,20

EDITURA DIDACTICĂ ŞI PEDAGOGICĂ – BUCUREŞTI 1977

Scanned with OKEN Scanner